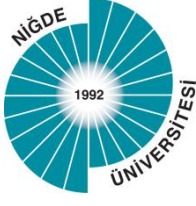


M. OKUR, 2015



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

ANTALYA'NIN KORKUTELİ YÖRESİ KEÇİLERİNDE *NEOSPORA CANINUM*
ANTİKORLARININ PREVALANSI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MÜBECCEL OKUR

NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2015

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

ANTALYA'NIN KORKUTELİ YÖRESİ KEÇİLERİNDE *NEOSPORA CANINUM*
ANTİKORLARININ PREVALANSI

MÜBECCEL OKUR

Yüksek Lisans Tezi

Danışmanlar

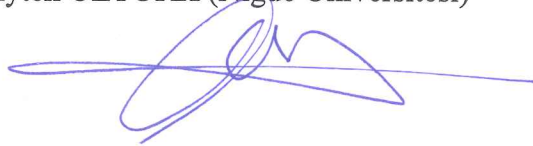
Prof. Dr. Mustafa KARATEPE

Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM

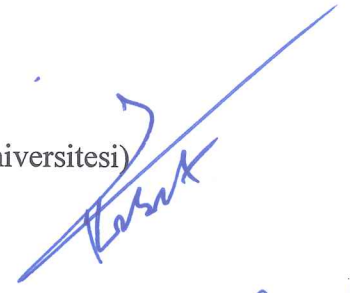
Haziran 2015

Mübeccel OKUR tarafından Prof. Dr. Mustafa KARATEPE ve Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM danışmanlığında hazırlanan “Antalya’nın Korkuteli Yöresi Keçilerinde *Neospora caninum* Antikorlarının Prevalansı ” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

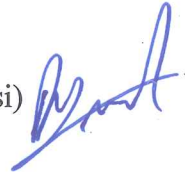
Başkan : Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK (Niğde Üniversitesi)



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



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



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



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



ONAY:

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

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

Doç. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

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



Mübeccel OKUR

ÖZET

ANTALYA’NIN KORKUTELİ YÖRESİ KEÇİLERİNDE *NEOSPORA CANINUM* ANTİKORLARININ PREVALANSI

OKUR, Mübeccel

Niğde Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Mustafa KARATEPE

İkinci Danışman : Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM

Haziran 2015, 39 sayfa

Bu çalışma, Antalya’nın Korkuteli yöresi keçilerinde anti-*Neospora caninum* antikorlarının seroprevalansının belirlenmesi amacı ile Şubat 2014-Temmuz 2014 tarihleri arasında yapılmıştır. Araştırma için Korkuteli yöresinde 6 farklı çalışma merkezinde bulunan (Dereköy, Çaykenarı, İmecik, Yazır, Leylek ve Akyar) 1-7 yaş arası toplam 184 dişi keçi rastgele seçilmiş ve bu keçilerin serumlarında *N. caninum* antikorları ELISA testi ile incelenmiştir. ELISA testi ile incelenen toplam 184 dişi keçinin 9 (%4.89)’unun *N. caninum* antikorları yönünden seropozitif olduğu tespit edilmiştir. Serolojik incelemede, en fazla seropozitiflik %7.14 oranı ile 5 yaşındaki keçilerde tespit edilirken, 1-2 yaşındaki keçilerde seropozitiflik saptanmamıştır. Abort görülen 37 keçinin 3’ü (%8.10) seropozitiflik belirlenirken, kalan 147 keçinin 6’sında (%4.08) *N. caninum* antikorları tespit edilmiştir. Ayrıca çalışma merkezleri arasında en yüksek seropozitiflik %11.53 ile İmecik’de tespit edilmiş, Çaykenarı, Yazır ve Leylek’te incelenen keçilerin hiçbirinde seropozitiflik saptanmamıştır. *N.caninum* seropozitifliği keçilerin yaş grupları, çalışma merkezleri ve abort yapan ve yapmayan keçiler açısından istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Sonuç olarak, Antalya’nın Korkuteli yöresinde keçilerde *N. caninum*’un varlığı ve yaygınlığı ilk kez bu çalışma ile saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: *Neospora caninum*, neosporosis, keçi, Antalya, seroprevalans, ELISA

SUMMARY

PREVALANCE OF *NEOSPORA CANINUM* IN GOATS KORKUTELİ PROVINCE OF ANTALYA

OKUR, Mübeccel

Nigde University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Mustafa KARATEPE

Co-Advisor : Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM

June 2015, 39 pages

This study was carried out on goats of Korkuteli district in Antalya province between February 2014 and July 2014 in order to determine the seroprevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies. For this aim, a total of 184 female goats between 1 and 7 years of age were randomly selected from six different study sites (Dereköy, Çaykenarı, İmecik, Yazır, Leylek ve Akyar). The serum samples of the goats were examined by using ELISA test for the presence of *N. caninum* antibodies. Out of the total 184 female goats examined, 9 (4.89%) were found to be seropositive for *N. caninum* antibodies. In the serological examinations, the highest seropositivity was detected in the 5 years old goats with the ratio of 7.14%, while no seropositivity was determined in all the goats that were 1 to 2 years old. Among the 37 goats with abortion and the remaining 147 goats without abortion 3 (8.10%) and 6 (4.08%) were identified as seropositive, respectively. In addition, the highest seropositivity rate was detected in İmecik with the ratio of 11.53%, amongst the study sites, whereas there was no seropositivity in the goats sampled from Çaykenarı, Yazır, and Leylek sites. *Neospora caninum* seropositivities did not show significant difference with regards to the age groups, aborting or non-aborting situation of the goats, the study sites, ($P>0.05$). In summary, this study reports the first data on the presence and seroprevalance of *N. caninum* in the goats of Korkuteli region of Antalya province.

Keywords: *Neospora caninum*, neosporosis, goat, Antalya, seroprevalence, ELISA

ÖN SÖZ

Keçiler, kırsal bölgelerde hem kolay bakım ve beslenmeleri hem de sütünün yüksek besin değerine sahip olması nedeniyle son yıllarda yoğun olarak yetiştirilmekte ve o bölgelerde yaşayan insanlar için önemli ekonomik katkı sağlamaktadır. *Neospora caninum*'un oluşturduğu neosporosis, keçilerde abortlara ve ölümlere yol açmakta ayrıca verim düşüklüğüne neden olarak keçi yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu çalışmada, Antalya'nın Korkuteli ilçesine bağlı 6 farklı çalışma merkezinde bulunan 1-7 yaş arasında toplam 184 dişi keçi araştırma materyalini oluşturmuştur. Keçilerden elde edilen serum örneklerinde ELISA testi ile *N. caninum* antikorlarının varlığının ve hastalığın seroprevalansının tespit edilmesiyle, bölgenin hastalık bakımından risk faktörlerini ortaya çıkarmak ve neticesinde mücadele programlarına ve hayvancılık ekonomisine katkı sağlanması hedeflenmiştir.

Çalışmam boyunca bana yol gösteren, değerli görüş, öneri ve deneyimlerini, maddi manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Mustafa KARATEPE'ye ve ikinci danışman hocam Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmamda ve literatür sağlanması aşamalarında desteğini gördüğüm Prof. Dr. Bilge KARATEPE'ye ve çalışmamın istatistiksel analizlerinin yapılmasında yardımcı olan Prof. Dr. Gazi GÖRÜR'e çok teşekkür ederim. Çalışmam esnasında bana yardımcı olan Yüksek lisans öğrencisi arkadaşım Deniz ÖZDAMAR'a çok teşekkür eder, akademik hayatında başarılar dilerim.

Her zaman yanımda olan, varlığı ile her konuda bana güç veren maddi manevi desteğini esirgemeyen ve çalışmalarımda desteğini gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Hazan KURTASLAN'a, Gülizar UYSAL'a, saha çalışmalarına yardım eden Ecz. Yadigar UYSAL'a ve her zaman yanımda olan canım arkadaşım Merve UYSAL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm yaşamım boyunca sevgi ve desteklerini yanımda hissettiğim, bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan, çalışmalarımda maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen tüm aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışmaya FEB 2013/31-YÜLTEP numaralı proje ile finansal destek sağlayan Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	v
ÖN SÖZ.....	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
FOTOĞRAF VB. MALZEMELER DİZİNİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMALAR.....	xii
BÖLÜM I GİRİŞ.....	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 <i>Neospora caninum</i> 'un Sınıflandırılması.....	2
2.2 <i>Neospora caninum</i> 'un Morfolojisi.....	2
2.3 <i>Neospora caninum</i> 'un Biyolojisi.....	4
2.4 <i>Neospora caninum</i> 'un Epidemiyolojisi.....	5
2.4.1 Türkiye ve Dünyada Neosporosis'le İlgili Yapılmış Çalışmalar.....	5
2.5 Keçilerde Neosporosis'in Klinik Belirtileri ve Patogenez.....	8
2.6 Neosporosis'de Bağışıklık.....	8
2.7 Keçilerde <i>Neospora caninum</i> 'un Teşhisi.....	9
2.7.1 Direkt tanı yöntemleri.....	10
2.7.1.1 <i>Neospora caninum</i> 'un izolasyonu.....	10
2.7.1.2 Moleküler teşhis.....	10
2.7.1.3 Histopatolojik ve immünohistokimyasal teşhis.....	10
2.7.2 İndirekt tanı yöntemleri.....	11
2.8 Keçilerde <i>Neospora caninum</i> 'dan Korunma ve Kontrol.....	11
2.9 Neosporosis'in Tedavisi.....	11
BÖLÜM III MATERYAL VE METOT.....	13
3.1 Materyal.....	13
3.1.1 Araştırma merkezi.....	13
3.2 Metot.....	14
3.2.1 Laboratuvar analizleri.....	14

3.2.2 Reaktiflerin hazırlanması	17
3.2.3 Serum örneklerinin sulandırılması ve inkübasyonu.....	17
3.2.4 Pleytlerin yıkanması	19
3.2.5 Konjugatın eklenmesi ve inkübasyonu	19
3.2.6 Pleytlerin yıkanması	19
3.2.7 Substratın eklenmesi ve inkübasyonu	19
3.2.8 Reaksiyonun durdurulması	19
3.2.9 Okuma ve sonuçların hesaplanması.....	19
3.2.10 İstatistiksel değerlendirmeler.....	21
BÖLÜM IV BULGULAR.....	22
BÖLÜM V TARTIŞMA VE SONUÇ.....	28
KAYNAKLAR	31
ÖZ GEÇMİŞ.....	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Çalışma merkezlerine göre <i>N. caninum</i> 'un seropozitifliği.....	22
Çizelge 4.2. Yaş gruplarına göre keçilerde ELISA testi ile <i>N. caninum</i> 'un seropozitifliği	24
Çizelge 4.3. <i>N. caninum</i> 'un yaş gruplarına göre abortlu hayvanlardaki seropozitifliği .	25
Çizelge 4.4. Abort yapan ve yapmayan keçilerdeki seropozitiflik durumu.....	26

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 N.caninum'un gelişme evreleri.....	3
Şekil 2.2 N.caninum'un yaşam siklusu.....	4
Şekil 3.1 Kan örneği alınan çalışma merkezleri.....	14
Şekil 4.1 Korkuteli yöresinde çalışma merkezlerine göre N.caninum antikorlarının seroprevalansı.....	23
Şekil 4.2 Korkuteli yöresinde keçilerden alınan kan örneklerinin çalışma merkezlerine göre N.caninum antikorları yönünden pozitiflik oranları.....	23
Şekil 4.3 Korkuteli yöresi keçilerinde yaş gruplarına göre N.caninum seroprevalansı	25
Şekil 4.4 Abort yapan ve yapmayan keçilerde N.caninum antikorlarının seropozitifliği.....	27

FOTOĞRAF VB. MALZEMELER DİZİNİ

Fotoğraf 3.1. Keçi serumlarının mikrotüpler içinde muhafaza edilmesi	15
Fotoğraf 3.2. Testte kullanılan pipetler ve pipet uçları.....	16
Fotoğraf 3.3. ELISA test kiti	16
Fotoğraf 3.4. Serum örneklerini karıştırmada kullanılan vorteks.....	17
Fotoğraf 3.5. Mikropleytlerin inkübasyonunda kullanılan etüv	18
Fotoğraf 3.6. Mikropleytlerin yıkama solüsyonu ile yıkanması.....	18
Fotoğraf 3.7. ELISA mikropleyt okuyucusu	20

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler

μm	Mikrometre
$^{\circ}\text{C}$	Derece Celsius
%	Yüzde
rpm	Dakikada Devir Sayısı
ml	Mililitre

Açıklama

Kısaltmalar

TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
LAT	Latex Aglutinasyon Test
IFAT	İndirekt Floresan Antikor Testi
DAT	Direkt Aglutinasyon Testi
RIT	Rapid Immunochromatographic Test
NAT	<i>Neospora caninum</i> - Aglutinasyon Test
PCR	Polymerase Chain Reaction
PAS	Periodic Acid Schiff
HE	Hematoksilen Eozin
DNA	Deoksiribonükleik Asit
VMRD	Veterinary Medical Research and Development
OD	Optikal Yoğunluk
SPSS	Statistical Programme for Social Science

BÖLÜM I

GİRİŞ

Neosporosis hastalığının etkeni olan *Neospora caninum*, zorunlu hücre içi bir parazittir. Bu parazit ilk olarak 1984 yılında Norveç'te ensefalomyelitis ve miyositisli bir köpekte saptanmıştır. Ancak *N. caninum* 1988'e kadar yapısal benzerlikleri nedeniyle *Toxoplasma gondii* olarak adlandırılmış ve bu tarihten itibaren *N. caninum* yeni bir tür olarak sınıflandırılmıştır (Dubey, 2003; Dubey vd., 2007).

Heteroksen bir gelişmeye sahip olan bu parazitin son konağı köpek, ara konakları ise sığır, koyun, keçi ve at gibi hayvanlardır. Dünyada yaygın olarak bulunan neosporosis köpeklerde ve sığırlarda ciddi bir hastalık olarak ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda klinik neosporosis'in varlığı keçi ve koyunlarda da gözlemlenmiştir. Neosporosis köpeklerde kas hastalıklarına, felçlere ve ölümlere neden olurken koyun, sığır ve keçilerde ise abort ve ölümlere sebep olmaktadır (Dubey, 2003; Figliuolo vd., 2004; Bartova vd., 2012).

Keçilerde abortlara neden olan neoporosisin yanı sıra keçi yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen ve ekonomik kayıplara yol açan toxoplasmosis, coccidiosis, babesiosis, theileriosis, sarcosporidiosis, cryptosporidiosis gibi çeşitli protozoon hastalıklar da bulunmaktadır (Karaer ve Nalbantoğlu, 2005).

Türkiye'de *N. caninum* ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok köpek ve sığırlar üzerinde gerçekleştirilmiş, buna karşılık keçilerde kısıtlı sayıda araştırma yapıldığı belirlenmiştir. Keçiler kırsal bölgeler ve o bölgelerde yaşayan insanlar için önemli ekonomik katkı sağlamaktadır. İnsanlar yüzyıllardır keçiyi süt, et, lif, deri hatta iş gücünden yararlanmak amacıyla kullanmışlardır. Dünyanın birçok ülkesinde keçiler bu özelliklerden dolayı küçükbaş hayvanlar arasında önemli bir yere sahiptir. Keçi yetiştiriciliği Türkiye'de de yaygın olarak yapılmakta ve ekonomik açıdan önemli bir yer tutmaktadır (Günlü ve Alaşahan, 2010; Koyuncu vd., 2006).

TÜİK verilerine göre, 2014 yılında Türkiye'de 10.186.000 keçi bulunmaktadır (TÜİK, 2014). Yapılan araştırmalara göre Türkiye'de keçi varlığının büyük bir kısmını kıl keçisi oluştururken, Tiftik (Ankara), Malta, Kilis, Honamlı, Norduz ve Saanen keçileri de diğer bir bölümünü meydana getirmektedir (Keskin vd., 2012). Çalışmanın gerçekleştirildiği Antalya ilinde ise 604.852 baş keçi bulunmaktadır (TÜİK, 2014).

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 *Neospora caninum*'un Sınıflandırılması

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

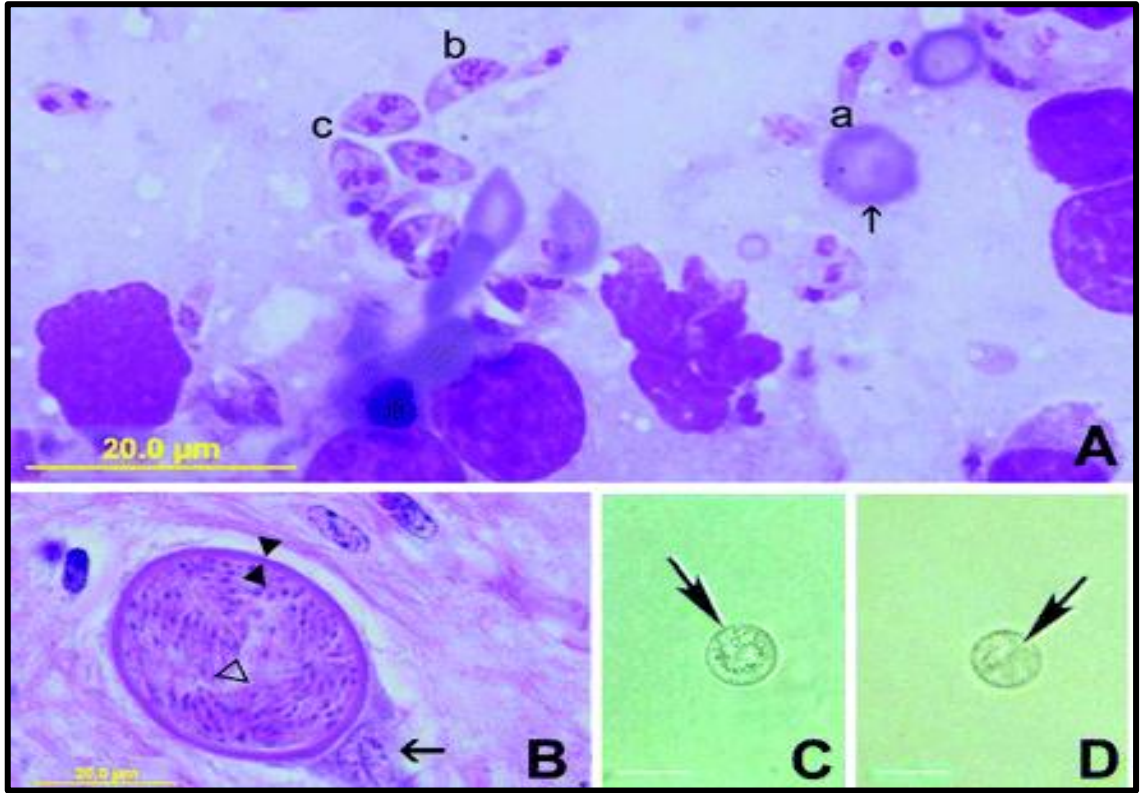
Üst Alem	: Eukaryota
Alem	: Chromalveolata
Kök	: Myzozoa
Kök Altı	: Apicomplexa
Sınıf	: Conoidasida
Sınıf Altı	: Coccidiasina
Dizi	: Eucoccidiorida
Dizi Altı	: Eimeriorina
Aile	: Sarcocystidae
Aile Altı	: Toxoplasmatinae
Soy	: Neospora
Tür	: <i>Neospora caninum</i>

2.2 *Neospora caninum*'un Morfolojisi

Geniş bir konak aralığına sahip, coccidian bir parazit olan *N. caninum*'un yaşam döngüsünde; takizoitler, doku kistleri (içinde bradizoitler) ve ookistler olmak üzere üç ayrı enfektif safha bulunmaktadır (Şekil 2.1) (Dubey vd., 2007).

Takizoitler oval, yarım ay şeklinde ya da küresel olup, 3-7x1-5µm arasındadır ve endodiyogeni ile bölünerek çoğalırlar (Dubey, 1992). Enfekte hayvanlarda takizoitler genellikle sinir hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, vasküler endotelial hücreler, miyositler, böbrek tubül epitelyum hücreleri ve hepatositlerde bulunmaktadır (Georgieva, 2006). Giemsa ve Wright boyasıyla boyandıktan sonra oval formda, hücre içerisinde parazitofor vakuolde bulunanlar kabaca muz şeklinde, hücre içerisinde serbest olanlar ise yuvarlağa yakın görülmektedir. Elektron mikroskopla yapıları incelendiğinde organel yönünden oldukça gelişmiş oldukları gözükmemektedir (Dubey ve Lindsay, 1996; Speer vd., 1999).

Doku kistleri, yaklaşık 107 µm kadar uzunluğunda olup, çoğunlukla oval veya yuvarlak şeklinde özellikle ara konağın merkezi sinir sisteminde (beyin, omurilik, sinir, retina) bulunmaktadır (Dubey, 2003; Dubey ve Linsday, 1996). Doku kistinin yaklaşık 4 µm duvar kalınlığı ile ince primer yapıdaki duvar birinci tabakayı, kalın granüler duvar da dış tabakayı oluşturmaktadır (Dubey, 1992; Dubey ve Linsday, 1996; Dubey vd., 2002). *Neospora caninum*'un doku kistleri 4°C'de 2 haftaya kadar canlı kalabilirler ve 20°C'de 1 günde ölürler (Dubey, 1992). Doku kistleri içinde hilal şeklinde 7-8x2µm boyutlarında bradizoitler bulunmaktadır. Bradizoitler de takizoit formunda bulunan organellere (büyük ve küçük yoğun granüller, rhoptries, micronemes) sahiptirler (Dubey vd., 2002). Periodic Acid Schiff (PAS) boyası, Wright-Giemsa ve İmmunoperoxidase boyları ile çok iyi boyanmaktadır (Jardine, 1996).



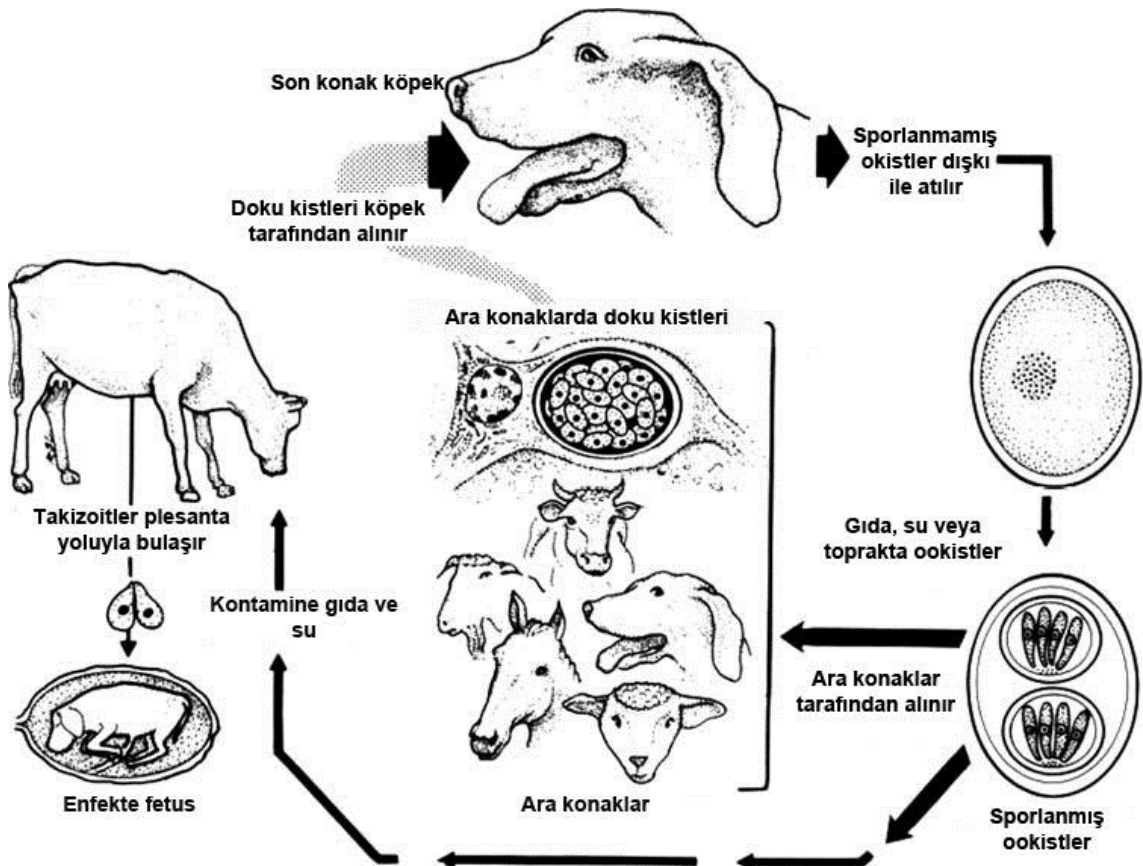
Şekil 2.1 *N. caninum*'un gelişme evreleri (Dubey vd., 2007).

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

Ookistler yaklaşık $11.7 \times 11.3 \mu\text{m}$ ($10.6-12.4 \times 10.6-12.0 \mu\text{m}$) büyüklüğündedir. Ookist duvarı $0.6-0.8 \mu\text{m}$ kalınlığında ve renksizdir. Ookistler konak dışında sporogoni safhasını geçirerek enfektif hale geçmektedirler. Dış ortamda uygun koşullarda her ookist içinde oluşan $8,4 \times 6,1 \mu\text{m}$ uzunluğunda iki adet sporokist bulunur. Her sporokist içerisinde $6,5 \times 2,0 \mu\text{m}$ uzunluğunda 4 adet sporozoit oluşturmaktadır (Dubey vd., 2002).

2.3 *Neospora caninum*'un Biyolojisi

Neosporosis etkeni *N. caninum*, heteroksen bir gelişmeye sahip olup son konağı köpekler, ara konakları sığır, koyun, keçi, geyik ve at gibi hayvanlardır. Ara konaklar köpeklerin dışkıları ile çıkardıkları ookistlerle bulaşık yem ve sularla enfekte olurlar. Son konak köpeklerde ise doku kisti içeren etlerin yenilmesi ve kendi dışkılarındaki ookistlerin alınması sonucu enfeksiyon meydana gelmektedir (Şekil 2.2) (Dubey, 2003; Spilovska vd., 2008).



Şekil 2.2 *N. caninum*'un yaşam siklusu (Dubey vd., 2007).

Ara konaklar tarafından enfektif formlar ağız yoluyla alındıktan sonra bağırsakta serbest kalan sporozoitler lenf yoluyla organlara gider (Georgeiva vd., 2006). Bunlar endodiyogeni yoluyla hızlı bir biçimde ikiye bölünerek çoğalır ve çok sayıda takizoit formları oluşur. Enfeksiyonun bu akut döneminde enfekte hücrelerin parçalanması ile takizoitler yeni hücrelere girerler. Bu sırada takizotler, bradizoit formuna dönüşürler. Bu form da endodiyogeni yoluyla yavaş bir hızla çoğalarak doku kistlerini oluşturur. Doku kistlerine arakonağın sinir dokularında rastlanmaktadır (McAllister vd., 1998; Georgeiva vd., 2006).

2.4 *Neospora caninum*'un Epidemiyolojisi

Neospora caninum, apikompleksan bir protozoon parazit olup varlığına ilk olarak köpeklerde rastlanmıştır (Zhang vd., 2007). *Neospora caninum*'un son konağı köpek, ara konağı ise koyun, keçi, sığır, geyik, at gibi hayvanlardır. Karnivorlarda ise bulaşma enfekte dokularla birlikte parazitin kist formlarının kontamine gıda ve suların oral yolla alınmasıyla meydana gelmektedir. Serolojik araştırmalara göre, birçok hayvan türünün *N. caninum*'a maruz kaldığı gözlemlenmiştir (Almeria ve Lopez-Gatius, 2013).

Köpek, koyun, sığır, keçi, at ve geyiklerde doğal enfeksiyonun varlığı tespit edilmiştir. Deneysel olarak fare, rat, köpek, tavşan, koyun, keçi, kedi, sığır, tilki ve gerbillerin de enfekte olabildiği gözlemlenmiştir. Deneysel olarak enfeksiyon; transplasental, intraperitoneal, intramuskuler, subkutan, intravenöz ve oral yollarla bulaşmaktadır (Dubey ve Lindsay, 1996; Dubey, 1999). Transplasental (vertikal) bulaşma, *N. caninum*'un yayılmasında önemli rol oynamaktadır (Schaes vd., 1999).

Neosporosis prevalansı dünya genelinde önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Prevelans farklılığı çeşitli risk faktörlerine ya da hastalık için koruyucu faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Neosporosis kaynaklı abortların oranı da dünyada farklılık göstermekte ve sporadik, endemik veya epidemik olarak seyretmektedir (Goodswen vd., 2013).

2.4.1 Türkiye ve Dünyada Neosporosis'le İlgili Yapılmış Çalışmalar

Sevgili vd. (2003) Şanlıurfa yöresinde 85 kıl keçisi ve 95 Halep keçisinde ELISA testi ile sırasıyla %4.7 ve %5.2 oranlarında *N. caninum* seropozitifliği saptamışlardır.

Eleni vd. (2004) İtalya’da abort yapmış keçilerin beyin ve kalp dokularında *N. caninum*’u PCR yöntemi ile araştırmışlar ve keçilerin beyin dokularında *N. caninum*’un varlığını gözlemlerken, kalp dokularında varlığını saptayamadıklarını bildirmişlerdir.

Naguleswaran vd. (2004) Sri Lanka’da yapmış oldukları çalışmada, 486 keçinin kan serumlarını IFAT, ELISA ve Western blot ile araştırmış ve sadece 3 (%0.7) tanesinde *N. caninum* seropozitifliği gözlemlemiştir.

Figliuolo vd. (2004) Brezilya’da yapmış oldukları çalışmada, 394 keçiden alınan kan örneklerini IFAT ile araştırmışlar ve 394 keçinin %6.4’ünde (25/394) anti-*N. caninum* antikorları tespit etmişlerdir.

Moore vd. (2007) Arjantin’de 94 sürüden toplam 1594 keçi üzerinde yaptıkları çalışmalarında IFAT ile *N. caninum*’a yönelik antikorları 106 keçide (%6.6) tespit etmişler ve 50 sürünün en az birinde seropozitiflik saptadıklarını bildirmişlerdir.

Uzeda vd. (2007) Brezilya’da 384 keçi üzerinde IFAT kullanılarak *N. caninum* antikorlarının varlığını araştırmışlar ve keçilerin 58’inde (%15) *N. caninum*’a karşı antikor tespit etmişlerdir.

Faria vd. (2007) Brezilya’da yapmış oldukları çalışmada, 306 keçiden alınan kan örneklerini IFAT ile araştırmışlar ve *N. caninum* varlığını %3.3 olarak saptamışlardır.

Al-Majali vd. (2008) Güney Ürdün’de 320 koyunun 38’i ve 300 keçinin 24’ünde *N. caninum*’un varlığını araştırdıkları çalışmalarında koyun ve keçilerde sırasıyla %4.3 ve %5.7 oranında seropozitiflik belirlemiştir.

Silva vd. (2009) Brezilya’da PCR yöntemi ile *T. gondii* ve *N. caninum* varlığını araştırdıkları çalışmalarında 102 keçinin %1.96’sında (2/102) *N. caninum* seropozitifliği tespit etmişlerdir.

Abo-Shehada ve Abu-Halaweh (2010) Kuzey Ürdün’de keçi ve koyunlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada 18 koyun, 27 keçi ve 59 karışık sürüden alınan kan örneklerinde ELISA testi ile *N. caninum* varlığını araştırmışlar ve keçilerden daha fazla koyunlarda *N. caninum* enfeksiyonuna rastladıklarını bildirmişlerdir.

Cayvaz ve Karatepe (2011) Niğde yöresindeki 8 farklı çalışma merkezindeki 1 yaş ve üzeri keçilerde ELISA testi kullanarak *N. caninum* seroprevalansını araştırmışlar ve

toplam 181 keçinin 47'sinde (%25.9) *N. caninum* antikorlarının varlığını tespit etmişlerdir.

Utuk vd. (2011) Elazığ, Kırşehir ve Erzurum illerinde yapmış oldukları çalışmada ELISA testi kullanarak 128 keçinin %10.2'sinde (13/128) 87 kıl keçisinin %13.8'inde (12/87) ve 41 Saanen keçisinin %10.2'sinde (13/41) *N.caninum*'un yaygınlığını saptamışlardır.

Czopowicz vd. (2011) Polonya'da yapmış oldukları çalışmada 1060 keçiden alınan kan örneklerini ELISA ve IFAT ile incelemişler ve %9 oranında *N. caninum* seropozitifliği gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Bartova ve Sedlak (2012) Çek Cumhuriyeti'nde ELISA testi ile 251 keçinin %6'sında (15/251) *N. caninum* seropozitifliği tespit etmişlerdir.

Iovu vd. (2012) Romanya'da yapmış oldukları araştırmada keçilerden aldıkları kan örneklerinde ELISA testi ile *T. gondii* ve *N. caninum*'un varlığını araştırmışlar ve 512 keçiden %2.3'ünde (12/512) seropozitiflik saptamışlardır.

Altbuch vd. (2012) 7086 serum örneğini inceledikleri epidemiyolojik çalışmada 134 keçide PCR ve ELISA testi ile *N. caninum*'un varlığını saptamışlar ve 8 yıllık araştırma ve testler sonucunda tüm pozitif hayvanları ve onların yavrularını sürüden çıkartarak neosporosisi eradike ettiklerini belirtmişlerdir.

Anastasia vd. (2013) Yunanistan'ın farklı bölgelerinde yapmış oldukları çalışmada koyun ve keçilerde ELISA testi kullanarak *T. gondii* ve *N. caninum*'u araştırmışlar ve 375 keçiden %6.9'unda seropozitiflik tespit etmişlerdir.

Mesquita vd. (2013) gebe keçilerde ve doğal bir şekilde enfekte olan fetuslarda *N. caninum* varlığını araştırdıkları çalışmalarında neosporosis ile ilişkili üreme sorunlarının (abort ve ölü doğum) keçilerin %15.38'inde bulunduğunu tespit etmişler ve *N. caninum*'un doğal olarak enfekte olan gebe keçilerin humoral bağışıklık sistemindeki önemli değişimlerden ve aynı zamanda keçilerdeki üreme bozukluklarından sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

Andrade vd. (2013) Brezilya'nın Minas Gerais bölgesinde 667 keçiden alınan kan örneklerinde anti-*N. caninum* antikorlarının yaygınlığını IFAT ile araştırmışlar ve

Minas Gerais bölgesindeki tüm çalışma alanında sürü düzeyinde seroprevalansı %75.2 ve bireysel düzeyde seroprevalansı ise %10.7 olarak tespit etmişlerdir.

Santos vd. (2013) Kuzeydoğu Brezilya'da keçi sürülerindeki *N. caninum* yaygınlığı ile risk faktörlerinin ilişkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında 975 keçiden ve 110 keçi sürüsünden serum örneklerini ELISA testi ile incelemişler ve alınan örneklerde en az bir hayvanın seropozitif olduğunu tespit etmişlerdir.

Unzaga vd. (2014) Arjantin'de abort yapan 25 keçide *T. gondii* ve *N. caninum*'un varlığını IFAT ve PCR testleri kullanarak araştırmış ve her iki parazite karşı %12 (3/25) oranında seropozitiflik saptamışlardır.

2.5 Keçilerde Neosporosis'in Klinik Belirtileri ve Patogenez

Neospora caninum keçilerde konjenital enfeksiyonlara ve abortlara yol açmaktadır. *Neospora caninum*'un keçilerdeki klinik belirtileri; dişilerde abort ve ölü doğumlar, neonatal oğlaklarda ensefalitis, doğum ağırlığının azalması, ataksi, meningeslerde ve medulla spinaliste daralma gibi anomaliler şeklindedir. Keçi fetuslarında otoliz ve mumifikasyon, plasentitis, diyafram, karaciğer ve akciğerlerde yangıya sebep olabilmektedir (Dubey, 1999; Varaschin vd., 2012).

Abort yapmış keçi fetusunun makroskopik incelenmesi sonucunda hidrosefalus, subkutan ödemler ve peteşial kutanöz hemorajiler görülmektedir. Aborte olmuş yavrunun dokularından yapılan mikroskopik incelemede deride mononükleer hücrelerin yaygın infiltrasyonu ve böbreklerde intersitisyel nefritis olduğu tespit edilmiştir (Dubey ve Lindsay, 1996).

Daha önce enfekte olmuş hayvanın beyninde bulunan ankiste kistler, gebelik esnasında meydana gelen hormonal değişiklikler, beslenme, stres, mikotoksin veya tekrarlayan hastalıklarla immunitenin zayıflaması sonucu aktif hale geçebilmektedir. Bunun sonucunda kist içindeki bradizoitler hızlı bir şekilde bölünebilmekte ve kan dolaşımına geçebilmektedir. Bu da fetusun transplasental enfeksiyonuna, sonuçta ya aborta ya da konjenital enfekte yavru doğumuna yol açmaktadır (Anderson vd. 2000; Toolan, 2003).

2.6 Neosporosis'de Bağışıklık

Protozoer enfeksiyonlarda şekillenen doğal bağışıklık, virus ve bakterilere karşı oluşan bağışıklığa benzemektedir. Genetik düzeyde oluşan direnç protozoonlara karşı en

önemli doğal bağışıklığı oluşturmaktadır. Kazanılmış bağışıklıkta ise hem hücresel hem de humoral yanıt oluşmaktadır. Antikorlar kan ve doku sıvılarındaki protozoer parazitlere karşı etkilidir. *Neospora caninum* gibi hücre içinde yaşayan parazitlere karşı korunmada ise hücresel immünite daha aktif rol oynamaktadır. Bununla birlikte *N. caninum*'a karşı konakta şekillenen bağışıklık üzerine yapılan araştırmalar sınırlı sayıda. *Neospora caninum* ve *T. gondii*'nin biyolojisi ve yerleştikleri hücrelerin aynı özellikte olması nedeni ile neosporosis'te oluşan immünite toxoplasmosis'e benzerlik göstermektedir (İnci vd., 2007; Sevinç ve Ekici, 2007).

Gebelikten önce hayvanlar *N. caninum*'la enfekte ise, abort oluşumuna ve fetusun konjenital enfeksiyonuna karşı humoral bir bağışıklık gösterebilmektedirler. Bazı seropozitif hayvanlarda abort görülmemesi bu şekilde açıklanmaktadır. Doğal enfekte hayvanlarda gebelik döneminde, immün sistem bozulursa kist içerisinde bulunan bradizoitler dışarı çıkar ve takizoitlere dönüşürler. Gebelik döneminin başlarında *N. caninum* ile deneysel olarak enfekte edilen hayvanlarda, enfeksiyonun seyri çok şiddetli olabilir ve fetal ölüm gerçekleşebilir. Enfeksiyonun şekillendiği sırada, fetusun yaşı da hastalığın ciddiyetini belirlemede çok önemlidir. Gebelik döneminde immün sistemde ortaya çıkan değişiklikler, *N. caninum* enfeksiyonunun anneden yavruya bulaşmasını kolaylaştırır. Koruyucu bağışıklığın, tekrarlayan enfeksiyonlarda hayvanları abortlardan koruduğu düşünülmektedir. Hayvanlardaki bu koruyucu immunitenin, ookistle tekrarlayan enfeksiyonlarda daha güçlendiği görülmüştür (Innes vd., 2001; Dubey, 2003; Dubey vd., 2007; Goodswen vd., 2013).

2.7 Keçilerde *Neospora caninum*'un Teşhisi

Neosporosis'de sadece klinik belirtiler doğrultusunda tanı konulamamaktadır. *Neospora caninum* enfeksiyonları subklinik seyrettiğinden birçok hastalıkla karışabilmektedir. *Neospora caninum*'un kesin tanısının konulabilmesi için fetusun histolojik muayenesi gereklidir. Özellikle abort, merkezi sinir sistemi bozuklukları ve ensefalomyelitis gibi belirtiler laboratuvar teşhis metotları ile birlikte tanıyı kolaylaştırmaktadır. Serolojik muayenelerin tanıya destek olmasının yanı sıra fetusun histolojik muayenesi de kesin tanı için gerekmektedir. Beyin, kalp, karaciğer, plasenta, vücut sıvıları veya kan serumları teşhis için yardımcı olmaktadır. Tek doku örneği yerine, farklı doku örneklerinin kullanılması da teşhis oranını yükseltmekte olup beyin dokusundan alınan

örnek ile daha kolay kesin tanıya varıldığı bildirilmektedir (Anderson vd., 2000; Dubey ve Schares, 2006, 2011)

2.7.1 Direkt tanı yöntemleri

2.7.1.1 *Neospora caninum*'un izolasyonu

Neospora caninum'u fareden izole etme denemeleri başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Sağlıklı hayvanlardan izole edilen *N. caninum*'un izolatları arasındaki antijenik farklılıklar yeterince bilinmemektedir. İzolasyon başarısı mevcut organizmaların sayısı ve otoliz durumuna bağlıdır. Neosporosisin tanısında kültürle teşhisin pratik bir önemi yoktur (Dubey ve Lindsay, 1996; Dubey, 2003; Toolan, 2003).

2.7.1.2 Moleküler teşhis

Son zamanlarda, PCR (Polymerase Chain Reaction) tekniği ile *Neospora caninum*'un DNA'sı tespit edilmiş, ancak bu yöntem aborte olmuş fetuslar üzerinde yaygın olarak kullanılmamıştır. Otolize veya mumifiye fetus üzerinde bu yöntemin uygunluğu pratik kullanım için değerlendirilmelidir (Woudal, 2000). Deneysel olarak enfekte hayvanların beyin, karaciğer ve akciğerlerinde PCR ile *N. caninum* tespiti yapılmaktadır. Formalinle tespit edilmiş ve parafine gömülmüş aborte fetusun beyin dokusundaki *N. caninum*'un DNA'sı PCR ile ortaya konulmuştur (Anderson vd., 2000; Dubey ve Lindsay, 2006).

2.7.1.3 Histopatolojik ve immunohistokimyasal teşhis

Neosporosis'in kesin teşhisini koyabilmek için fetusun histolojik muayenesinin yapılması gereklidir. Neosporosis'de teşhis için beyin, kalp, karaciğer, plasenta, vücut sıvıları ya da kan serumu kullanılmaktadır. Neosporosis lezyonları çeşitli organlarda bulunmasına rağmen enfeksiyondan en çok etkilenen organ fötal beyin olduğu için en uygun materyali oluşturmaktadır. Abortların çoğu muhtemelen otolize olduğundan immunohistokimyasal muayene de gereklidir fakat otolize olmuş dokularda genellikle birkaç *N. caninum* bulunmakta ve bunlar da çoğunlukla hematoksilen eozin (HE) ile boyalı preparatlarda her zaman gözükmemektedir. Histopatolojik muayenenin yapılabilmesi için beyin dokusunun %10'luk buffered nötral formalin solüsyonunda tespit edilmesi ve HE ile boyalı kesitlerde hazırlanması gereklidir. Nekrozis ile karakterize edilen fokal ensefalitis ve nonsuppuratif yangı neosporosisin en

karakteristik lezyonlarındandır. Bu yüzden meydana gelen lezyonlarda *N. caninum*'u immunohistokimyasal olarak ortaya çıkartmak ve teşhis koyabilmek için en iyi kanıt olarak gösterilmektedir (Dubey ve Lindsay, 1996; Anderson vd., 2000; Dubey ve Schares, 2006).

2.7.2 İndirekt tanı yöntemleri

Hastalığın teşhisinde kullanılan başlıca indirekt tanı yöntemleri;

- Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA)
- İndirekt Floresan Antikor Test (IFAT)
- Latex Aglutinasyon Test (LAT)
- *Neospora caninum*-Aglutinasyon Test (NAT)
- Direkt Aglutinasyon Test (DAT)
- Western Blot (Immunoblotting)
- Rapid Immunochromatographic Test (RIT)

şeklindedir.

2.8 Keçilerde *Neospora caninum*'dan Korunma ve Kontrol

Neospora caninum'un neden olduğu neosporosisin keçilerde yayılmasında köpeklerin rolü büyüktür. Son konak olan köpeklerin dışkısı diğer hayvanların gıda ve sularından uzak tutulmalıdır. Kontamine olmuş atıkların çevrede bulunması hastalığın bulaşmasına neden olabilir. Bu yüzden plasenta, aborte fetus ve ölü doğmuş yavruların atıkları imha edilerek köpekler tarafından yenmeleri engellenmelidir. *Neospora caninum* doğal olarak enfekte olan koyun, sığır ve geyiklerde tespit edildiği için bu hayvanların çiğ eti de köpeklere yedirilmemelidir. Enfeksiyondan korunmak için gebe hayvanların immunitisini zayıflatacak durumlardan da sakınılması gerekmektedir (Dubey vd., 1996; Dubey, 2003).

Neospora caninum için çeşitli kontrol yöntemleri vardır. En etkili yöntem doğum, ölüm ve sürüye yeni katılan hayvan sayıları ile test sonuçlarının ayrıntılı olarak kayıtlarını tutmaktır. Enfekte olmayan çiftliklere yeni hayvan girişleri olduğu zaman hayvanlar enfeksiyon yönünden test edilmelidirler. *Neospora caninum* enfeksiyonunu engellemenin bir başka yöntemi de sürüde oluşan abortları seropozitiflik açısından değerlendirilip ayırmaktır (Anderson, 2008; Dubey ve Schares, 2011).

2.9 Neosporosis'in Tedavisi

Bu güne kadar *N. caninum*'a karşı spesifik bir ilaç belirlenememiştir. Hücre kültürlerinde üretilen *Neospora*'lara karşı insan ve hayvanlarda protozoonların tedavisinde kullanılan ilaçlar kullanılmış fakat enfekte hayvanlarda fazla yararı olmadığı görülmüştür. Bu hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçlar sadece takizoitlere etki göstermektedir (Hoar vd., 1996; Lindsay vd., 1996)

ABD ve Kanada'da kullanılmak üzere 2001 yılında bir *N. caninum* aşısı üretilmiştir. Bu aşı gebe ineklerde gebeliğin ilk üç ayında subkutan uygulanmakta 3-4 hafta sonra 2. doz yapılmaktadır. Takip eden her gebelikte aşılama tekrarlanmaktadır. Bu aşının enfekte ineklere uygulanması durumunda, abort ihtimalini azalttığı ve konjenital enfekte buzağı doğumundan koruduğu ifade edilmektedir. Enfeksiyonun erken tanısının konulabildiği vakalarda Clindamycin ile Sülfonamid/Trimethoprim kombinasyonlarının klinik belirtileri azalttığı, fakat oluşan lezyonlar geri dönüşümsüz olması sebebi ile tam anlamıyla tedavi edilemediği belirtilmektedir (Dubey ve Lindsay, 1996; Toolan, 2003; Georgieva vd., 2006).

BÖLÜM III

MATERYAL ve METOT

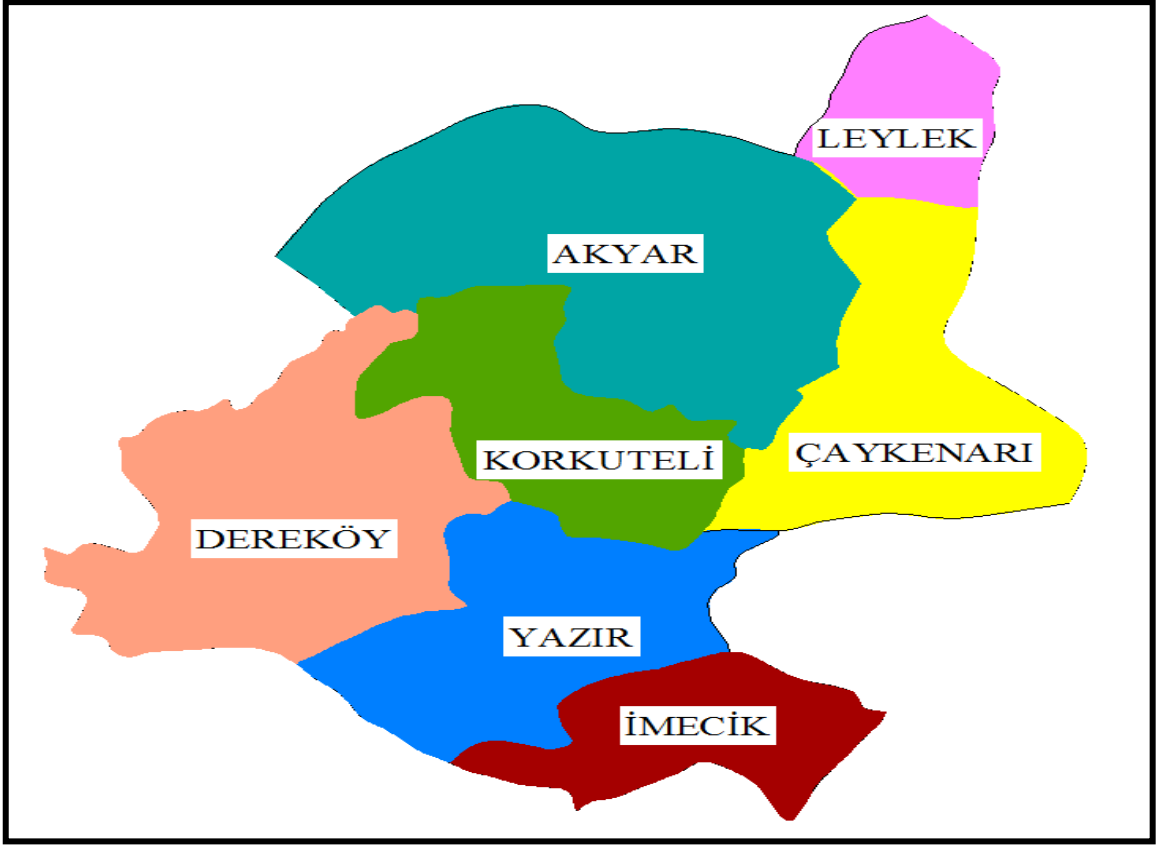
3.1 Materyal

3.1.1 Araştırma merkezi

Korkuteli, Antalya iline bağlı Akdeniz bölgesi ilçelerindedir. Doğusunda Antalya merkez ilçesi, batısında Muğla Fethiye ilçesi ve Burdur, Gölhisar ve Çavdır ilçeleri, güneyde Kumluca, Elmalı ilçeleri ve kuzeyde Burdur, Bucak ve Tefenni ilçeleri ile çevrili bulunmaktadır. Antalya'ya 60 km uzaklıkta olup 37°-3' kuzey enlemi ve 30°-11' doğu boylamında bulunmaktadır. Yüzölçümü 2471 km², deniz seviyesinden 1020 m yükseklikte olup, ¼ oranında Akdeniz iklimi, ¾ oranında göller bölgesi karasal iklimi hüküm sürmektedir. Bitki örtüsü iklime paralel olarak gelişmiştir. Yılın dört mevsimi ilçede görülen hava sıcaklığı ortalaması kış aylarında genel olarak -5°C ve yaz aylarında 25°C derece olmaktadır. Korkuteli'nin yıllık ortalama sıcaklığı 13°C ve yıllık ortalama yağış miktarı da 466 mm'dir.

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2014 verilerine göre Korkuteli'nin toplam nüfusu 52,913 kişidir ve nüfusun geçim kaynağı genellikle tarım, meyvecilik, hayvancılık ve arıcılık ile orman işçiliğidir. Bölgede son yıllarda yaygınlaşan kültür mantarı üretimi de ilçe ekonomisine büyük katkılar sağlamaktadır. İlçede çok hızlı gelişen bu sektör ülke genelinde büyük bir paya sahiptir.

Bu çalışma, Şubat 2014-Temmuz 2014 tarihleri arasında Antalya'nın Korkuteli yöresi keçilerinde *N. caninum* varlığını ve yayılışını araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Bu amaç doğrultusunda Korkuteli yöresinde 6 farklı çalışma merkezinde (Dereköy, Çaykenarı, İmecik, Yazır, Leylek ve Akyar) bulunan 1-7 yaşlarında halk elinde yetiştirilen dişi keçiler rastgele seçilmiştir. Çalışma merkezlerinden sırasıyla Şubat ayında 30 keçi, Mart ayında 30 keçi, Nisan ayında 26 keçi, Mayıs ayında 30 keçi, Haziran ayında 27 keçi ve Temmuz ayında 41 keçi olmak üzere toplam 184 dişi keçinin vena jugularisinden steril vakumlu tüpler kullanılarak 10 ml kan örneği toplanmış ve abort yapmış keçiler belirlenmiştir. Ayrıca çalışma merkezlerinde bulunan köpekler de belirlenerek kayıt altına alınmıştır.



Şekil 3.1 Kan örneği alınan çalışma merkezleri

3.2 Metot

3.2.1 Laboratuvar analizleri

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 yapıncaya kadar -20°C’lik derin dondurucuda muhafaza edilmiştir (Fotoğraf 3.1).



Fotoğraf 3.1 Keçi serumlarının mikrotüpler içinde muhafaza edilmesi

Kan serumları Niğde Üniversitesi Bor Meslek Yüksekokulu Seroloji Laboratuvarında ELISA tekniği ile incelenmiş ve *Neospora caninum* antikorlarının araştırılması amacıyla ticari kompetatif ELISA (cELISA) kiti (IDEXX, Switzerland AG Stationsstrasse 12 3097 Liebefeld-Bern, Switzerland) kullanılmıştır. ELISA testi, kit prosedüründe belirtildiği şekilde yapılmıştır.



Fotoğraf 3.2 Testte kullanılan çeşitli pipetler ve pipet uçları



Fotoğraf 3.3 ELISA test kiti

3.2.2 Reaktiflerin hazırlanması

Reaktifleri kullanmadan önce keçi serumları, test solüsyonları ve pleytler (*N. caninum* Antigen Coated Plates) oda sıcaklığına (18-26°C) çıkarılmıştır (Fotoğraf 3.2 ve Fotoğraf 3.3). Serumların protokol numaraları daha önceden hazırlanmış veri kayıt formu üzerine yazılmıştır. ELISA testi için kullanılacak bütün test solüsyonları ve serumlar vorteks ile karıştırılmıştır (Fotoğraf 3.4). Yıkama solüsyonunu hazırlamak için, yıkama konsantresi (Wash Concentrate 10X) distile su ile 1:10 oranında seyreltilmiştir.

3.2.3 Serum örneklerinin sulandırılması ve inkübasyonu

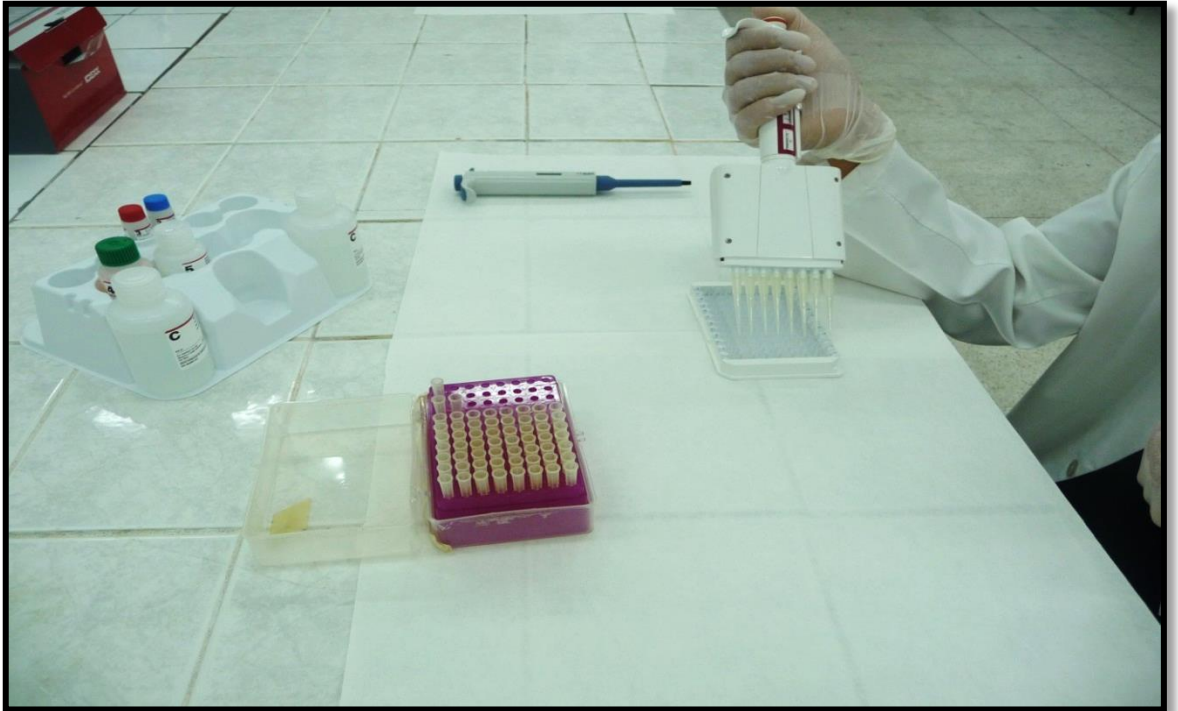
İlk olarak mikropleytlerin her bir kuyucuğuna pipetle 90 µl örnek sulandırıcı (Sample Diluent) eklenmiştir. Pleytlerin pozitif ve negatif kontrol kuyucuğuna pipetle 10 µl pozitif ve negatif kontrol eklendikten sonra, pozitif ve negatif kontrol kuyucuğu dışındaki her bir kuyucuğa veri kayıt formundaki numaralandırmaya göre 10 µl serum örneği sulandırmadan konulmuştur. Daha sonra mikropleytler nazik bir şekilde karıştırılmış ve üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak 37°C ($\pm 3^\circ\text{C}$)’de 60 dakika (± 5 dakika) inkübasyona bırakılmıştır (Fotoğraf 3.5).



Fotoğraf 3.4 Serum örneklerini karıştırmada kullanılan vorteks



Fotoğraf 3.5 Mikropleytlerin inkübasyonunda kullanılan etüv



Fotoğraf 3.6 Mikropleytlerin yıkama solüsyonu ile yıkanması

3.2.4 Pleytlerin yıkanması

İnkübasyondan sonra her bir pleyt kuyucuğu yaklaşık 300µl yıkama solüsyonu (Wash Concentrate 10X) ile 3 kez yıkanmıştır (Fotoğraf 3.6). Her yıkama işlemi sonunda pleytler kağıt havlu üzerine sert bir şekilde birkaç kez vurularak içlerindeki yıkama solüsyonu boşaltılmıştır.

3.2.5 Konjugatın eklenmesi ve inkübasyonu

Mikropleytlerin her bir kuyucuğu içine 100µl konjugat (Conjugate anti-ruminant IgG) eklenmiştir ve mikrotiter platelerin üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak 37°C ($\pm 3^\circ\text{C}$)'de 60 dakika (± 5 dakika) inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.6 Pleytlerin yıkanması

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

3.2.7 Substratın eklenmesi ve inkübasyonu

Mikropleytlerin her bir kuyucuğu içine 100µl substrat (TMB Substrate N.12) ilave edilerek oda sıcaklığında (18-26°C) 15 dakika (± 1 dakika) inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.8 Reaksiyonun durdurulması

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

3.2.9 Okuma ve sonuçların hesaplanması

Stop solüsyonu eklendikten hemen sonra, mikropleytlere boşaltılmadan 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında (mikrotiter plate okuyucusu, MR-96A) okutulmuş elde edilen değerler IDEXX kit prosedüründe belirtilen formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Fotoğraf 3.7).



Fotoğraf 3.7 ELISA mikropleyt okuyucusu

Formül;

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

O.D. örnek: Örneklerin Optikal Yoğunluğu

O.D. pozitif: Pozitif Kontrollerin Optikal Yoğunluğu

O.D. negatif: Negatif Kontrollerin Optikal Yoğunluğu

Bu hesaplama sonucunda, test örneği % değeri;

< %30 küçük ise sonuç negatif

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

\geq %40 ise sonuç pozitif olarak kabul edilmiştir.

3.2.10 İstatistiksel değerlendirmeler

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

BÖLÜM IV

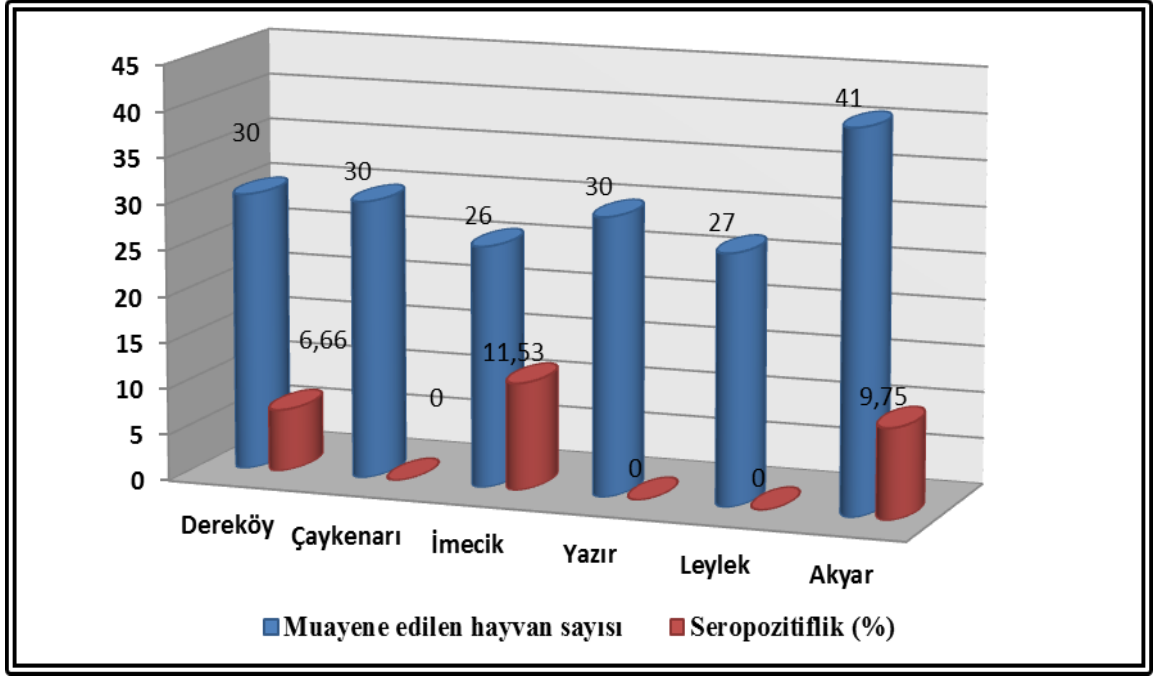
BULGULAR

Araştırmada incelenen 184 dişi keçiye ait serum örneklerinden 9’unda seropozitiflik belirlenmiş ve seroprevalans %4.89 olarak saptanmıştır. Bunun yanında çalışma merkezlerinde incelenen keçilerin çevrelerinde parazitin biyolojisinde son konak görevi gören köpeklerin varlığı tespit edilmiştir.

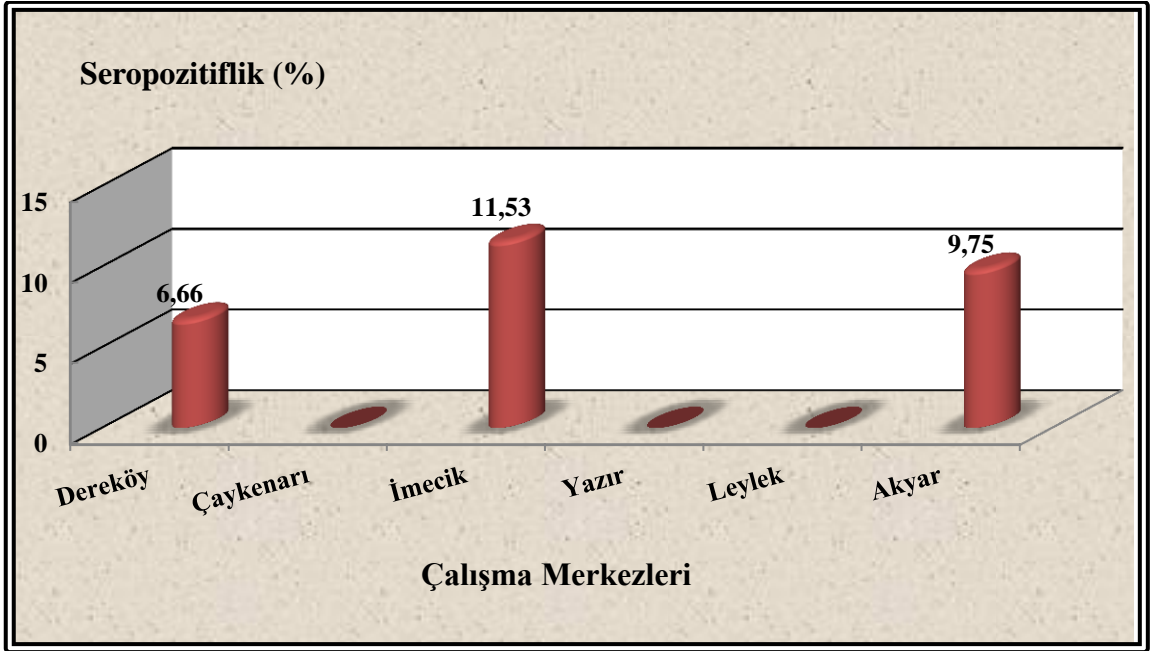
Çizelge 4.1 Çalışma merkezlerine göre *N. caninum*’un seropozitifliği

Çalışma Merkezi	Aylar	İncelenen Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı	Seroprevalans (%)
Dereköy	Şubat	30	2	6.66
Çaykenarı	Mart	30	-	-
İmecik	Nisan	26	3	11.53
Yazır	Mayıs	30	-	-
Leylek	Haziran	27	-	-
Akyar	Temmuz	41	4	9.75
Toplam		184	9	4.89

Çizelge 4.1’de çalışma merkezlerine göre *N. caninum*’un seroprevalansı verilmiştir. Buna göre Çaykenarı, Yazır ve Leylek yörelerinden alınan örneklerin incelenmesi sonucunda hiçbirinde *N. caninum*’un seropozitifliği gözlenememişken, Dereköy’de 30 keçinin 2’sinde (%6.66), İmecik’de 26 keçinin 3’ünde (%11.53) ve Akyar’da 41 keçinin 4’ünde (%9.75) *N. caninum* antikorları saptanmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Korkuteli yöresinde çalışma merkezlerine göre keçilerde *N. caninum* antikorlarının seroprevalansı



Şekil 4.2 Korkuteli yöresinde keçilerden alınan kan örneklerinin çalışma merkezlerine göre *N. caninum* antikorları yönünden pozitiflik oranları

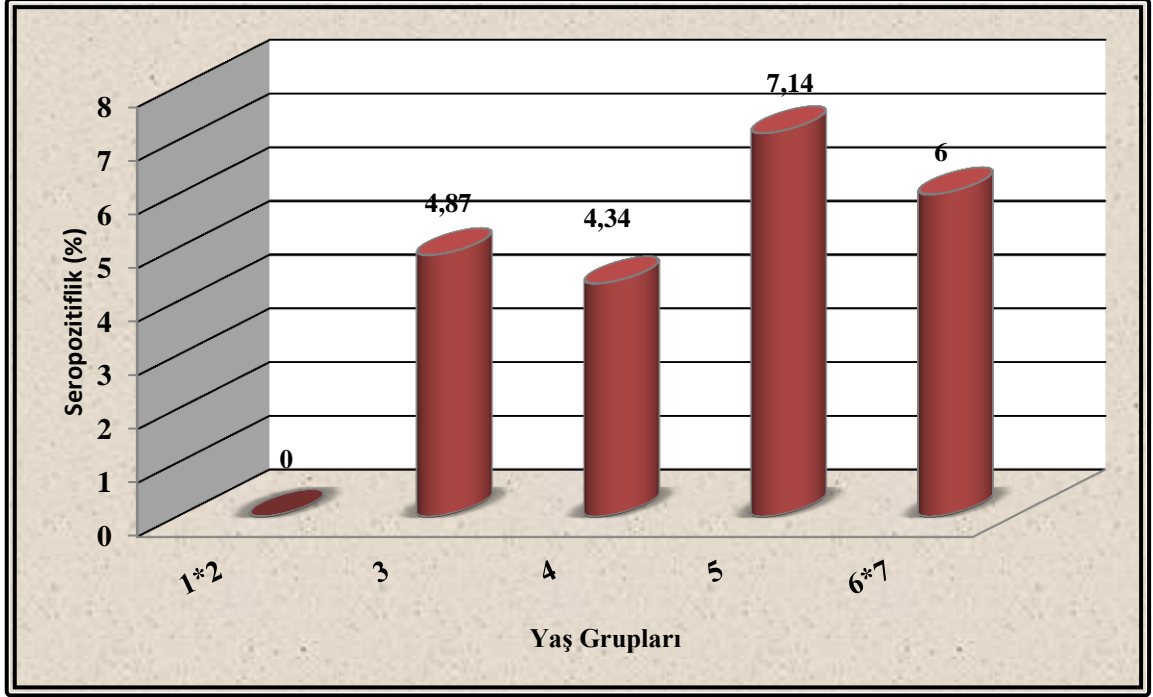
Şekil 4.2’de gösterildiği gibi çalışma merkezlerine göre seropozitiflik en yüksek İmecik’te %11.53 ile belirlenmiş, buna karşılık Çaykenarı, Yazır ve Leylek’te incelenen keçilerin hiçbirinde seropozitiflik saptanmamıştır. Korkuteli yöresinde çalışma

merkezleri açısından *N. caninum*'un seropozitifliği istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Çizelge 4.2 Yaş gruplarına göre keçilerde ELISA testi ile *N. caninum*'un seropozitifliği

Yaş Grupları	Muayene Edilen Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı	Pozitiflik (%)
1-2 yaş	19	-	-
3 yaş	41	2	4.87
4 yaş	46	2	4.34
5 yaş	28	2	7.14
6-7 yaş	50	3	6
Toplam	184	9	4.89

Çizelge 4.2'de yaş grupları açısından; 3 yaş grubu 41 keçinin 2'sinde (%4.87), 4 yaş grubu 46 keçinin 2'sinde (%4.34), 5 yaş grubu 28 keçinin 2'sinde (%7.14) ve 6-7 yaş grubu 50 keçinin 3'ünde (%6) seropozitiflik saptanırken 1-2 yaş grubu keçilerde seropozitiflik belirlenmemiştir.



Şekil 4.3 Korkuteli yöresi keçilerinde yaş gruplarına göre *N. caninum* seroprevalansı

Şekil 4.3’de belirtildiği gibi, en fazla seropozitiflik %7.14 oranı ile 5 yaş grubu keçilerde belirlenirken, 1-2 yaş grubu keçilerde seropozitiflik tespit edilememiştir. Keçilerin yaş gruplarına göre *N. caninum* seropozitifliği istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Çizelge 4.3 *N. caninum*’un yaşa gruplarına göre abortlu hayvanlardaki seropozitifliği

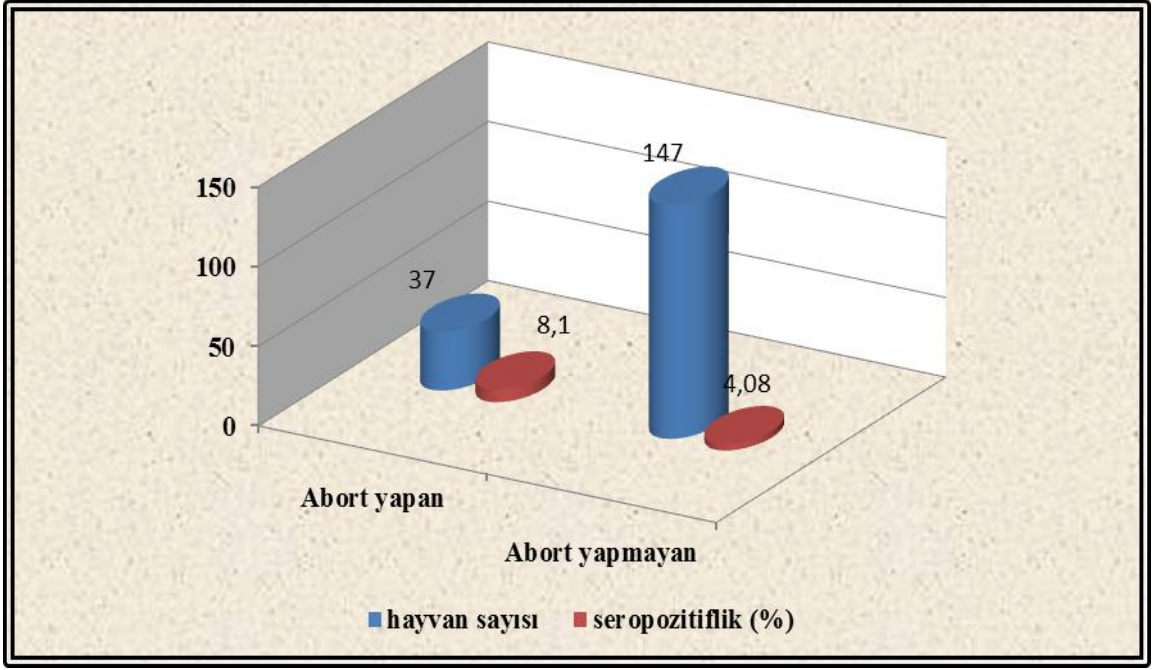
Yaş Grupları	Muayene Edilen Hayvan Sayısı	Abortlu Hayvan Sayısı	Seropozitif Abortlu Hayvan Sayısı
1-2 yaş	19	3	-
3 yaş	41	7	-
4 yaş	46	6	1
5 yaş	28	8	-
6-7 yaş	50	13	2
Toplam	184	37	3

Kan örneklerinin alınması sırasında muayene edilen keçilerden abort yapmış olanlar belirlenerek Çizelge 4.3’de verilmiştir. Buna göre 1-2, 3 ve 5 yaş grubundaki keçiler hariç olmak üzere 4 yaşında bulunan 6 abortlu keçinin 1’i ve 6-7 yaşında bulunan 13 abortlu keçinin 2’si olmak üzere toplam 37 abort yapmış keçinin 3’ü *N. caninum* antikorları yönünden seropozitif bulunmuştur.

Çizelge 4.4 Abort yapan ve yapmayan keçilerdeki seropozitiflik durumu

Gruplar	Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı	%
Abort Yapan	37	3	8.10
Abort Yapmayan	147	6	4.08
Toplam	184	9	4.89

Çizelge 4.4’de abort görülen ve görülmeyen keçilerdeki seropozitiflik durumu verilmiştir. Bu çizelgeden anlaşılacağı gibi abort yapan 37 keçinin 3’ü (%8.10), abort yapmayan 147 keçinin 6’sı (%4.08) seropozitif bulunmuştur. Gruplar arasında seropozitiflik oranı karşılaştırıldığında ortaya çıkan veriler istatistiksel olarak önemsiz saptanmıştır ($P>0.05$).



Şekil 4.4 Abort yapan ve yapmayan keçilerde *N. caninum* antikörlerinin seropozitifliği

BÖLÜM V

TARTIŞMA VE SONUÇ

Neosporosis, dünya çapında kozmopolit bir yayılış göstermekte ve özellikle son yıllarda keçilerde abort, neonatal ölüm ve klinik enfeksiyonlara sebep olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde de keçi yetiştiriciliğinde hayvanlarda genellikle döl verimi ve süt kayıplarına yol açma potansiyelinin yüksek olması sebebiyle önemli ölçüde ekonomik kayıplar meydana getirebilmektedir. Ekonomik kayıpların yanısıra enfekte hayvanların tedavi giderleri ve abort yapmış hayvanların elden çıkarılarak yerlerine yenilerinin yetiştirilmesi gibi bazı indirekt kayıplar da önemli bir yer tutmaktadır (Dubey, 2003; Dumanlı vd., 2010; Aydın, 2013).

Neosporosis'in serolojik tanısında ELISA, IFAT, LAT ve NAT gibi serolojik yöntemlerin yanı sıra son zamanlarda PCR tabanlı moleküler teknikler de kullanılmaktadır (Woudal, 2000). *Neospora caninum*'un seroprevalansının belirlenmesinde yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip özellikle ELISA ve IFAT gibi testlerden yaygın olarak yararlanılmaktadır. Neosporosis'in kesin teşhisinin konulabilmesi için fetusun histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak muayenesinin yapılması önemlidir (Dubey ve Lindsay, 1996; Dubey ve Schares, 2006). Bunun yanında son yıllarda *N. caninum* ile enfekte hayvanlarda moleküler tekniklerden PCR ile parazit DNA'sı da ortaya konulmuştur (Anderson vd., 2000; Dubey ve Lindsay, 2006).

Ülkemizde *N. caninum*'la ilgili çalışmalar genellikle sığır ve köpeklerde yürütülmüş olup, keçiler üzerinde *N. caninum*'un antikorlarının varlığının belirlenmesi için sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Türkiye'de keçiler üzerinde yapılan ilk çalışmada, Sevgili vd. (2003) Şanlıurfa yöresinde 85 kıl keçisinin 4'ünü (%4.7), 95 Halep keçisinin ise 5'ini (%5.2) *N. caninum* yönünden pozitif olarak tespit etmişlerdir. Daha sonra Cayvaz ve Karatepe (2011) Niğde yöresinde 181 keçinin 47'sini (%25.9), Utuk vd. (2011) Elazığ, Kırşehir ve Erzurum illerinde 128 keçinin 13'ünü (%10.2), 87 kıl keçisinin 12'sini (%13.8) ve 41 Saanen keçisinin 1'ini (%2.4) seropozitif olarak saptamışlardır. Türkiye'de keçilerde yapılan çalışmalarda *N. caninum* seroprevalansının en düşük %2.4 ve en yüksek %25.9 oranında olduğu kaydedilmiştir.

Bu tez çalışmasında Antalya'nın Korkuteli yöresinde 184 keçinin 9'unda (%4.89) seropozitiflik saptanmıştır. Bu araştırmada elde edilen seropozitiflik oranının Şanlıurfa yöresinde gerçekleştirilen çalışma (Sevgili vd., 2003) sonuçları ile uyumluluk gösterdiği, fakat diğer bazı çalışmaların (Cayvaz ve Karatepe, 2011; Utuk vd., 2011) sonuçlarıyla kıyaslandığında ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın nedeni, keçilerin bulunduğu coğrafik bölge, incelenen hayvan sayısı, yetiştirilme şekli ve teşhis yöntemleri gibi faktörlerle ilişkilendirilebilir.

Dünyanın birçok ülkesinde keçilerde *N. caninum*'un prevalansını belirlemek için çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda; Figliuolo vd. (2004) Brezilya'da IFAT ile 394 keçide *N. caninum*'un seroprevalansını %6.4, Naguleswaran vd. (2004) Sri Lanka'da ELISA, IFAT ve Western blot ile 486 keçi *N. caninum* seroprevalansını %0.7 oranında tespit etmişlerdir. Eleni vd. (2004) İtalya'da abort yapmış keçilerin beyin ve kalp dokularında PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada yalnız beyin dokularında *N. caninum*'un varlığını belirlemişlerdir. Faria vd. (2007) Brezilya'da IFAT ile 306 keçide *N. caninum*'un seroprevalansının %3.3, Uzeda vd. (2007) Brezilya'da IFAT ile 384 keçide anti-*N. caninum* antikorlarının varlığını %15 oranında bulurlarken, Moore vd. (2007) Arjantin'de IFAT ile 1594 keçide anti-*N. caninum* antikorlarını 106 keçide tespit etmişler ve 50 sürünün en az birinde seropozitiflik gözlemlemişlerdir. Al-Majali vd. (2008) Güney Ürdün'de ELISA testi ile 300 keçide *N. caninum*'un seroprevalansını %5.7, Silva vd. (2009) Brezilya'da PCR yöntemi ile 102 keçide *N. caninum* varlığını %1.96 oranında belirlerken, Abo-Shehada ve Abu-Halaweh (2010) Kuzey Ürdün'de ELISA ile 18 koyun, 27 keçi ve 59 karışık sürüde, koyunlarda keçilerden daha fazla *N. caninum* enfeksiyonuna rastladıklarını bildirmişlerdir. *Neospora caninum*'un seroprevalansını Czopowicz vd. (2011) Polonya'da ELISA ve IFAT ile 1060 keçide %9, Bartova ve Sedlak (2012) Çek Cumhuriyeti'nde ELISA ile 251 keçide %6, Iovu vd. (2012) Romanya'da ELISA ile 512 keçide %2.3, Anastasia vd. (2013) Yunanistan'ın farklı bölgelerinde ELISA ile 375 keçide %6.9, Andrade vd. (2013) Brezilya'nın Minas Gerais bölgesinde IFAT ile 667 keçide sürü düzeyinde %75.2, bireysel düzeyde ise %10.7 belirlemişlerdir. Santos vd. (2013) Kuzeydoğu Brezilya'da ELISA ile 975 keçi ve 110 keçi sürüsünde *N. caninum*'un yaygınlığı ile risk faktörlerinin ilişkisini belirlemek amacıyla alınan örneklerde en az bir hayvanın seropozitif olduğunu, Mesquita vd. (2013) gebe keçilerde ve doğal enfekte olan fetuslarda *N. caninum* varlığını araştırdıkları çalışmalarında neosporosis ile ilişkili abort ve ölü doğum gibi

üreme sorunlarının keçilerin %15.38'inde bulunduğunu ve Unzaga vd. (2014) Arjantin'de IFAT ve PCR ile 25 keçide *N. caninum*'un yaygınlığının %12 oranında bulunduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada keçilerde tespit edilen *N. caninum*'un seroprevalansının (%4.89) Brezilya (%1.96, %3.3 ve %6.4) (Figliuolo vd., 2004; Faria vd., 2007; Silva vd., 2009), Romanya (%2.3) (Iovu vd., 2012), Güney Ürdün (%5.7) (Al-Majali vd., 2008), Çek Cumhuriyeti (%6) (Bartova ve Sedlak, 2012) ve Yunanistan'da (%6.9) (Anastasia vd., 2013) keçilerde belirlenen sonuçlarla benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Araştırmamızla uyumluluk gösteren çalışmalar bulunmasının yanısıra Sri Lanka, Brezilya, Polonya ve Arjantin'de (Naguleswaran vd., 2004; Uzeda vd., 2007; Czopowicz vd. 2011; Andrade vd., 2013; Mesquita vd. 2013; Unzaga vd. 2014) yapılan çalışmalarda farklı prevalans sonuçlarının da var olduğu tespit edilmiştir. Belirlenen prevalans sonuçlarındaki bu farklılıklar, çalışmaların farklı bölgelerde yapılmış olması, keçilerin yetiştirilme şartları ve sayısı ile analizde kullanılan farklı yöntemlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Korkuteli yöresinde gerçekleştirilen bu serolojik incelemede, en yüksek seropozitiflik %7.14 oranı ile 5 yaş grubu keçilerde tespit edilirken, 1-2 yaş grubu keçilerde seropozitiflik saptanmamıştır. Keçilerin yaşlarına göre belirlenen *N. caninum* seropozitifliği istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Benzer şekilde Sevgili vd. (2003) Şanlıurfa yöresinde 0-1 yaş ile 1 yaşından büyük keçilerde seropozitiflik oranları arasında istatistiksel fark bulamadığını bildirmişlerdir. Buna karşılık Cayvaz ve Karatepe (2011) Niğde yöresinde yaş gruplarına göre *N. caninum* seropozitifliğini istatistiksel olarak önemli bulduklarını bildirmişlerdir. Utuk vd. (2011) de Elazığ, Erzurum ve Kırşehir yörelerinde *N. caninum* seropozitifliğini 2-4 yaş arası keçilerde daha yüksek saptadıklarını bildirmişlerdir.

Bunun yanında abort yapan 37 keçinin 3'ü (%8.10), abort görülmeyen 147 keçinin ise 6'sı (%4.08) çalışmamızda seropozitif olarak belirlenmiş ve bu gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır ($P>0.05$). Benzer şekilde Cayvaz ve Karatepe (2011) Niğde yöresinde abort yapan ve yapmayan keçiler arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemsiz olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışma merkezleri açısından ise, *N. caninum*'un seropozitifliği en yüksek İmecik'te %11.53 ile belirlenmiş, buna karşılık Çaykenarı, Yazır ve Leylek'teki keçilerin

hiçbirinde seropozitiflik saptanamamıştır. Elde edilen anti-*N. caninum* antikorlarının seroprevalansı; keçilerin çalışma merkezleri açısından da istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Türkiye’de keçilerde yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçların yaş grupları, çalışma merkezleri ile abort yapan ve yapmayan keçiler açısından değerlendirilmesi sonucunda elde edilen farklı seropozitiflik oranları çalışmaların yapıldığı yöreye, çalışmada kullanılan keçilerin beslenme ve yetiştirilme şekli ile son konak köpeklerin sayısına bağlanabilir.

Neosporosis’in ülkemizde ve dünyada keçilerde yaygın olarak görüldüğü yapılan çalışmalarla ortaya konulmuş ve hastalığın özellikle abort ve ölümlere sebep olarak keçi yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkilediği saptanmıştır. Son konak köpekler parazitin ara konaklarda ve keçi sürüleri arasında yayılmasında önemli bir yere sahip olduğundan, köpeklerin keçilerin kullandığı mera, ağıl, yem ve sulardan uzak tutulması sağlanarak ookist kontaminasyonu engellenmeli ve köpeklere çiğ et yedirilmemelidir. Ayrıca sürüdeki enfekte keçi ve oğlaklar belirlenmeli ve elden çıkarılarak yetiştirmede kullanılmamalıdır.

Sonuç olarak, Antalya’nın Korkuteli yöresinde keçilerde *N. caninum*’un varlığı ve seroprevalansı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Araştırmada toplam 184 dişi keçiden alınan kan örneklerinin ELISA ile analizi sonucunda 9’unun (%4.89) seropozitif olduğu saptanmıştır. Tespit edilen bu sonuç, bölgede yetiştirilen keçilerin *N. caninum* enfeksiyonu açısından risk altında olduğunu göstermektedir. Bu nedenle Korkuteli yöresinde halk elinde yetiştirilen keçilerde neosporosisin etkisinin belirlenmesi, oluşturduğu ekonomik kayıpların ortaya çıkarılması ve gerekli kontrol tedbirlerin alınabilmesi için son konak köpekleri de içine alan daha kapsamlı ve özellikle moleküler düzeyde çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

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

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

Almeria, S., Lopez-Gatius, F., “Bovine neosporosis: Clinical and practical aspects”, ***Research in Veterinary Science***, 95, 303–309, 2013.

Altbuch, J. A., Schofield, M.J., Porter, C. A. and Gavin, W.G., “*Neospora caninum*: A successful testing and eradication program in a dairy goat herd”, ***Small Ruminant Research***, 105, 341– 344, 2012.

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

Anderson M.L., Andrianarivo A.G. and Conrad P.A., “Neosporosis in cattle” ***Anim Reproduct Sci.***, 60-61: 417-431, 2000.

Anderson, T.C., “*Neospora caninum* Exposure in Wisconsin Wildlife”, Master of Science-Biology, ***The University of Wisconsin Oshkosh***, ABD, 2008.

Andrade, G. da S., Bruhn, F.R.P., Rocha, C.M.B.M., Guimarães, A.de Sá., Gouveia, A.M. G. and Guimarães, A.M., “Seroprevalence for *Neospora caninum* in goats of Minas Gerais state, Brazil”, ***Research in Veterinary Science***, 94, 584–586, 2013.

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

- Bartova, E. and Sedlak, K., “*Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in goats in the Czech Republic”, *Veterinarni Medicina*, 57 (3), 111-114, 2012.
- Buxton, D., “Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis* spp.) in sheep and goats: recent advances”, *Vet Res.*, 29, 289-310, 1998.
- Cayvaz, M. ve Karatepe, M., “Niğde Yöresi Keçilerinde *Neospora caninum*’un Seroprevalansı”, *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17 (6): 935-939, 2011.
- Czopowicz, M., Kaba, J., Szalu’s-Jordanow, O., Nowicki M., Witkowski, L. and Frymus, T., “Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Poland”, *Veterinary Parasitology* 178, 339–341, 2011.
- Dubey, J. P., “A Review of *Neospora caninum* and *Neospora*-like Infections in Animals”, *J. Protozool. Res.*, 2, 40-52, 1992.
- Dubey, J.P. and Lindsay, D.S., “A review of *Neospora caninum* and neosporosis”, *Veterinary Parasitology*, 67, 1-59, 1996.
- Dubey, J.P., “Recent advances in *Neospora* and neosporosis”, *Veterinary Parasitology*, 84, 349–367, 1999.
- Dubey, J.P., Barr, B.C., Barta, J.R., Bjerkas, I., Björkman, C., Blagburn, B.L., Bowman, D., Buxton, D., Ellis, J.T., Gottstein, B., Hemphill, A., Hill, D.E., Howe, D.K., Jenkins, M.C., Kobayaski, Y., Koudela, B., Marsh, A.E., Mattsson, J.G., McAllister, M.M., Modry, D., Omata, Y., Sibley, L.D., Speer, C.A., Trees, A.J., Uggla, A., Upton, S.J., Williams, D.J.L. and Lindsay, D.S., “Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related Coccidia”. *Int. J. Parasitol*, 32: 929-946, 2002.
- Dubey, J.P., “Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals”, *The Korean Journal of Parasitology*” No:1, Vol:41, s:1-16, 2003.
- Dubey, J.P. and Lindsay, D.S., “Neosporosis, Toxoplasmosis, and Sarcocystosis in Ruminants”, *Vet Clin Food Anim*, 22, 645–671, 2006.

- Dubey, J.P. and Schares, G., “Diagnosis of bovine neosporosis”, *Veterinary Parasitology* 140(1-2), 1-34, 2006.
- Dubey, J.P., Schares, G. and Ortega-Mora, L.M., “Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*”, *Clinical Microbiology Reviews*, 2 (20): 323-367, 2007.
- Dubey, J.P. and Schares, G., “ Neosporosis in animals-the last five years”, *Veterinary Parasitology* 180, 90-108, 2011.
- Dumanlı, N. ve Aktaş, M., Veteriner Protozooloji, ed., Dumanlı, N. Karaer, Z., *Medisan Yayınevi*, Ankara, 2010.
- 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.
- 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.
- Figliuolo, L.P.C., Rodrigues, A.A.R., Viana, R.B., Aguiar, D.M., Kasai, N. and Gennari, S.M., “Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil”, *Small Ruminant Research*, 55, 29–32, 2004.
- Georgieva, D.A., Prelezov, P.N. and Koinarski, V. TS., “*Neospora caninum* and Neosporosis in Animals-A Review”, *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 9: 1-26, 2006.
- Goodswen, S. J., Kennedy, P. J. and Ellis, J.T., “A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present”, *Infection, Genetics and Evolution*, 13, 133–150, 2013.

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

Hoar, B.R., Ribble, C.S., Spitzer, C.C., Spitzer, P.G. and Janzen, E.D., “Investigation of pregnancy losses in beef cattle herds association with *Neospora sp.* infection” , *Can. Vet. J.*, 37:364-366, 1996.

Innes E.A., Wright S.E. and Maley S., “Protection against vertical transmission in bovine neosporosis” , *Int J Parasitol.*, 31: 1523-1534, 2001.

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

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

Jardine, J.E., “The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dogs absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin”, *Veterinary Parasitology*, 64, 231-240, 1996.

Karaer, Z. ve Nalbantoğlu, S., Parazit Hastalıklarında Tedavi, ed., Burgu, A. ve Karaer, Z., *Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 19, Meta Basım*, İzmir, 2005.

Keskin, M., Gökdal, Ö., Atay, O. ve Konyalı, A., “Türkiye’de Yetiştirilen Keçi Irkları”, *Türkiye’nin Bitkisel ve Hayvancılık Dergisi*, , s:15, 2012.

Koyuncu, M., Uzun, Ş.K. ve Tuncel, E., “Güney Marmara Bölgesi Keçicilik İşletmelerinin Genel Durumu ve Verim Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar II. İşletmelerin Üretim Potansiyeli ve Sorunlar” *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12 (1) 29-36, 2006.

Lindsay, D.S., Butler, J.M., Rippey, N.S. and Blagburn, B.L., “ Demonstration of synergistic effects of sulfonamides and dihydrofolate reductase / thymidylate synthase

inhibitors against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells, and characterization of mutants resistant to pyrimethamine”, *Am. J. Vet. Res.*, 57:68-72, 1996.

McAllister, M.M, Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Jolley, W.R., Wills, R.A. and McGuire, A.M., “Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*”, *Int J Parasitol*, 28, 1473-1478, 1998.

Mesquita, L.P., Nogueira, C.I., Costa, R.C., Orlando, D.R., Bruhn, F.R.P., Lopes, P.F.R., Nakagaki, K.Y.R., Peconick, A.P., Seixas, J.N., Júnior, P.S. B., Raymundo, D.L. and Varaschin, M.S., “Antibody kinetics in goats and conceptuses naturally infected with *Neospora caninum*”, *Veterinary Parasitology*, 196, 327–333, 2013.

Moore, D.P., Yaniz de, 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.

Naguleswaran, A., Hemphilla, A., Rajapakseb, R.P.V.J. and H. 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.

Santos, C.S.A.B., Azevedo, S.S., Soares, H.S., Higino, S.S.S., Santos, F.A., Silva, M.L.C.R., Pena, H.F.J., Alves, C.J. and Gennari, S.M., “Flock-level risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in dairy goats in a semiarid region of Northeastern Brazil”, *Small Ruminant Research*, 112, 239– 242, 2013.

Schares, G., Conraths, F.J. and Reichel, M.P., “ Bovine neosporosis: comparison of serological methods using outbreak sera from a dairy herd in New Zealand”, *International Journal for Parasitology*, 29, 1659-1667, 1999.

Sevgili, M., Çimtay, İ. ve Keskin, O., “Şanlıurfa yöresindeki keçilerde *Neospora caninum* enfeksiyonunun seroprevalansı”, *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 27(4), 249-251, 2003.

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

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.

Speer, C.A., Dubey, J.P., McAllister, M.M. and Blixt, J.A., “Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*”, **Int J. Parasitol.**, 29 (10), 1509-1519, 1999.

Spilovska, S. and Reiterova, K., “Seroprevalence of *Neospora caninum* in Aborting Sheep and Goats in The Eastern Slovakia”, **Folia Veterinaria**, 52, 1: 33-35, 2008.

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

Toolan DP., “*Neospora caninum* abortion in cattle a clinical perspective” **Irish Vet J.**, 56: 404-410, 2003.

TÜİK, T.C Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu, Hayvansal üretim istatistikleri, www.tuik.gov.tr, 2014, **(27.08.2014)**

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

Utuk, A.E, Şimşek., S., Pişkin, F.C. and Balkaya, I., “Detection of *Neospora caninum* IgG Antibodies in Goats in Elazig, Erzurum and Kırşehir Provinces of Turkey”, **Israel Journal of Veterinary Medicine**, 66 (4), 2011.

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.

Varaschin, M.S., Hirsch, C., Wouters, F., Nakagaki, K.Y., Guimarães, A.M., Santos, D.S., Bezerra Jr, P.S., Costa, R.C., Peconick, A.P. and Langohr, I.M., “Congenital Neosporosis in Goats from the State of Minas Gerais, Brazil”, *Korean J Parasitol*, Vol. 50, No. 1:63-67, 2012.

Woudal, W., “Diagnosis and Epidemiology of Bovine Neosporosis: A Review”, *Vet. Quart.*, 22: 71-4, 2000.

Zhang, W., Deng, C., Liu, Q., Liu, J., Wang, M., Tian, K.G., Yu, X.L. and Hu, D.M., “First identification of *Neospora caninum* infection in aborted bovine fetuses in China”, *Veterinary Parasitology*, 149, 72–76, 2007.

ÖZ GEÇMİŞ

Mübeccel Okur 26 Mayıs 1990 tarihinde Antalya’da doğdu. İlköğretim ve lise öğrenimini Antalya’da tamamladı. 2008 yılında Niğde Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nü kazandı ve Haziran 2012 yılında mezun oldu. Daha sonra 2012 yılında Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı.