

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KONYA YÖRESİ KOYUNLARINDA
BABESİA OVIS'İN ELISA İLE TESHİSİ**

(DOKTORA TEZİ)

T 54880

Veteriner Hekim Ferda SEVİNÇ
Parazitoloji Anabilim Dalı

Danışman
Doç. Dr. Bilâl DİK

KONYA - 1996

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TABLO LİSTESİ.....	II
GRAFİK LİSTESİ	III
RESİM LİSTESİ.....	IV
1. ABSTRAKT.....	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
4. LİTERATÜR BİLGİSİ	4
4.1. Tarihçe	5
4.2. Babesia ovis'in Sistematikteki Yeri	6
4.3. Babesia Türlerinin Genel Morfolojileri.....	7
4.4. Babesia Türlerinin Genel Biyolojileri	8
4.5. Babesiosisin Epidemiyolojisi	11
4.6. Babesiosisde Bağışıklık	19
4.7. Babesiosisin Semptomları.....	22
4.8. Babesiosisin Patolojisi	24
4.9. Babesiosisin Teşhisi	26
4.10. Babesiosisin Tedavisi	39
4.11. Babesiosisden Korunma.....	41
5. MATERYAL VE METOT	42
6. BULGULAR	47
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	58
8. ÖZET	63
9. SUMMARY	65
10. LİTERATÜR LİSTESİ	67
11. ÖZGEÇMİŞ.....	80
12. TEŞEKKÜR.....	81

TABLO LİSTESİ

Sayfa No:

- Tablo 1. Mikroskopik bulgulara göre koyunlarda Babesia ovis'in 4 farklı merkezde aylara göre dağılımı 47
- Tablo 2. Serolojik bulgulara göre koyunlarda Babesia ovis'in 4 farklı merkezde aylara göre dağılımı 49
- Tablo 3. Koyunlarda Babesia ovis'in yaş gruplarına göre dağılımı 53
- Tablo 4. Konya yöresinde koyunlardan toplanan kenelerin aylara göre dağılımı 55
- Tablo 5. Mayıs 1994 ve Nisan 1995 tarihleri arasında Konya Merkez'in klimatolojik değerleri :
..... 56
- Tablo 6. Mayıs 1994 ve Nisan 1995 tarihleri arasında Çumra'nın klimatolojik değerleri
..... 57
- Tablo 7. Mayıs 1994 ve Nisan 1995 tarihleri arasında Beyşehir'in klimatolojik değerleri :
..... 57

GRAFİK LİSTESİ**Sayfa No:**

- Grafik 1. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Çumra ilçesindeki koyunlarda Babesia ovis'in aylara göre dağılımı..... 50
- Grafik 2. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Beyşehir ilçesindeki koyunlarda Babesia ovis'in aylara göre dağılımı..... 51
- Grafik 3. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Sarayönü ilçesindeki koyunlarda Babesia ovis'in aylara göre dağılımı..... 51
- Grafik 4. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Konya merkezdeki koyunlarda Babesia ovis'in aylara göre dağılımı..... 52
- Grafik 5. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Konya yöresi koyunlarında Babesia ovis'in aylara göre genel dağılımı 52

RESİM LİSTESİ**Sayfa No:**

- Resim 1. Akut babesiosisli bir koyunun kan frotisinde Babesia
ovis'in piroplasm formları (çift armut formunda) 82
- Resim 2. Akut babesiosisli bir koyunun kan frotisinde Babesia
ovis'in piroplasm formları (oval formda)..... 82
- Resim 3. Akut babesiosisli bir koyunun kan frotisinde Babesia
ovis'in piroplasm formları (karışık formda)..... 83

1. ABSTRAKT

Bu çalışma, Konya yöresindeki koyunlarda babesiosisin yayılışını, babesiosisi nakleden keneleri ve onların mevsimsel aktivitelerini tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

Bu araştırma Mayıs 1994-Nisan 1995 tarihleri arasında Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Sarayönü ilçelerinde yürütülmüştür. Bu çalışmada koyunlarda Babesia ovis enfeksiyonunun teşhisinde mikroskopik muayenelerin yanısıra ELISA testi de uygulanmıştır.

Kontrol edilen koyunlardan yapılan 723'er adet sürme ve kalın damla frotilerin mikroskopik muayeneleri sonucu toplam 83 (%11.47) koyun B. ovis yönünden müspet bulunmuştur. ELISA testi ile yapılan serolojik test bulgularına göre ise toplam 700 adet koyun kan serumunun 295 (%42.14) tanesinde B. ovis antikorları tespit edilmiştir. Serolojik ve mikroskopik muayene sonuçlarına göre B. ovis enfeksiyonuna en fazla Temmuz ayında rastlanmıştır.

Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre, B. ovis enfeksiyonu en fazla 1-2 yaş grubundaki koyunlarda, en az ise 6-12 aylık gruptaki koyunlarda tespit edilmiştir.

B. ovis ile enfekte koyunlarda Rhipicephalus bursa ve Rh. turanicus'a rastlanmıştır. Bu kenelerin Nisan ve Ağustos ayları arasında aktif oldukları gözlenmiştir.

Serolojik ve mikroskopik muayene sonuçlarının istatistik analizleri sonucu bu iki metot arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Enfeksiyonun görülme oranına göre, yaş grupları arasında da istatistiki olarak önemli fark tespit edilmiştir ($\chi^2=35.8$, $p<0.01$).

2. ABSTRACT

This research-work was done in Konya and its some small towns (Çumra, Beyşehir, Sarayönü). Sixty sheep from Konya and each small town were examined monthly between the dates of May, 1994 and May, 1995. The blood samples were taken from each sheep and blood smears were prepared for microscopic examination. In addition, serum sample from each sheep was separated for the serologic diagnosis of *B. ovis* by ELISA immediately after centrifugation. The sheep were examined for tick infestation, and collected ticks were identified by stereomicroscopy.

At the results of microscopic examinations of 723 blood smears, *B. ovis* was diagnosed in 83 (11.47 %). However, *B. ovis* antibodies were determined serologically by ELISA in 295 (42.14 %) of 700 serum samples. According to the result of both serologic and microscopic examinations, the seasonal prevalence of babesiosis in sheep was highest in July.

When the age prevalence of *B. ovis* infection diagnosed by ELISA and microscopic examinations was evaluated, the highest prevalence (53.9 %) was found at the 1-2 age group. The lowest prevalence (22.14 %) was found in sheep ageing 6-12 months.

The results of the collected tick examinations showed that *Rh. bursa* and *Rh. turanicus* which are the vectors of *B. ovis* had the highest prevalence at the dates of between April and August.

There was significant differences ($p < 0.01$) between the results of microscopic and serologic examinations. Significant differences were also found among the age groups of sheep ($p < 0.01$).

3.GİRİŞ

Türkiye'de koyun yetiştiriciliği, hayvancılık sektörünün önemli bir kısmını teşkil etmektedir. Tarım ve Köyişleri Bakanlığının 1992 yılı kayıtlarına göre, Türkiye'nin koyun varlığı 39.416.000'dir. Bu miktarın 1.878.000'ini Konya'daki koyunlar oluşturmaktadır. Koyun popülasyonunun fazla olmasına rağmen, bu sektörden elde edilen kazanç çok düşüktür. Koyuncululuğu olumsuz yönde etkileyen sorunların arasında paraziter hastalıklar, bilhassa da kan protozoonlarından ileri gelenler önemli yer tutmaktadır. Bunlardan babesiosis, koyun yetiştiriciliğinde en zararlı hastalıklardan birisidir. Özellikle yaz aylarında ortaya çıkan bu hastalığa koyunlarda çok sık rastlanmakta ve ölümler görülmektedir. Babesiosisin ortadan kaldırılabilmesi veya kontrol altına alınabilmesi için, bu hastalığın epidemiyolojisinin çok iyi bilinmesi gerekmektedir.

Babesiosis, halk arasında "Ağrıma", "Ağrık", "Sarılık" gibi isimlerle bilinmektedir. Yaz aylarında ortaya çıkan klinik semptomlara bakılarak babesiosisten şüphe edilmekle birlikte, kesin teşhis perifer kandan yapılan frotilerde etkenlerin görülmesiyle yapılmaktadır. Hastalığın teşhisinde ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) , IFAT (İndirekt Floresan Antikor Testi), IHA (İndirekt Hemaglutinasyon), KF (Komplement Fikzasyon) ve Gel-Presipitasyon testi gibi çeşitli serolojik testler de kullanılmaktadır.

Bu araştırma, Konya yöresindeki koyunlarda Babesia ovis'in prevalansını ve ara konakçı kene türlerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

4. LİTERATÜR BİLGİSİ

Babesiosis; Babesia cinsinde yer alan türlerin neden olduğu protozoer bir hastalık olup, **piroplasmosis**, **kene humması**, **kızıl su humması**, **Teksas humması** ve **dalak humması** olarak da bilinmektedir. Babesia türleri evcil ve yabani bir çok omurgalı hayvanda bulunmaktadır. Koyun ve keçilerde babesiosis, dünya çapında yaygın bir hastalık olup, en önemli etkenleri **B. ovis** ve **B. motasi**'dir..

Parazitler kan hücreleri içinde genellikle yuvarlak, ameboid, armut, basil veya batone şeklinde görülürler. Piroplasm formlar çekirdek, sitoplazma ve vakuolden oluşmuşlardır. Çoğalma, bazı türlerde ikiye veya dörde bölünmekle, bazılarında da tomurcuklanma veya şizogoni yoluyla olmaktadır. Piroplasmidalar, Ixodidae ailesine bağlı kenelerin yayılışı ile paralel olarak tüm dünyaya yayılmışlardır. Babesiosis, en fazla tropik ve subtropik iklim bölgelerinde ve sıcak mevsimlerde ortaya çıkmakta ve çok şiddetli seyrederek ölümlere sebep olmaktadır. Bu parazitler çok sayıda omurgalıda hastalık oluşturma yeteneğine sahiptirler. Hastalık genellikle ateş, sarılık, hemolitik anemi, hemoglobinuri ve ciddi vakalarda ölüm ile karakterizedir. Hastalık, bir konakçıdan diğerine Ixodidae ailesindeki kenelerle nakledilmektedir. Babesia türleri genellikle konakçı spesifitesi gösterirler. Fakat bazı istisnalar da vardır. Örneğin; sığırlarda görülen **Babesia bovis**, koyun ve keçilerde de gözlenebilmektedir. Rodentlerde görülen **Babesia microti**, insanlar için de

patojendir. Babesia divergens sığırların yanısıra insan , gerbil (*Meriones unguiculatus*) ve ratlarda enfeksiyon oluşturabilmektedir. Koyun ve keçilerdeki türler de karşılıklı olarak her iki konakçıyı enfekte edebilmektedirler (30, 60, 64, 69, 73, 77, 90).

4.1. Tarihçe:

Babesia, ilk kez 1888'de Babes tarafından Romanya'daki sığırlarda bulunmuştur. Fakat Babes, etkenlerin tabiatını tanıyamadığından, bunlardan ileri gelen hastalığa "bakteriyel hemoglobinemi" adını vermiştir. Smith ve Kilborne'a (1893) kadar, Teksas humması olarak adlandırılan hastalığın, babesiosis olduğu belirlenememiştir. Smith ve Kilborne, *Babesia* etkenlerinin keneler tarafından nakledildiklerini keşfetmişlerdir. Aynı araştırmacılar, 1899'da Amerika'da sığırların alyuvarlarında yuvarlak ve armut şeklinde gördükleri spesifik etkenlere, *Babesia bigemina* adını vermişlerdir. 1930 yılında, *Babesia*'nın bütün evcil ve yabani hayvanlarda bulunduğu gösterilmiştir. Levine tarafından listesi çıkarılan 71 *Babesia* türünden 18 tanesi, sığır, koyun, keçi, at, domuz, kedi ve köpek gibi evcil hayvanlarda hastalığa sebep olmaktadır (14, 26, 28, 30, 60, 64, 73, 77, 90).

Koyun ve keçi babesiosisi, ilk defa 1884'de Romanya'da Mazureano tarafından bildirilmişse de, koyunlarda **Carceag** adıyla tanınan bu hastalığın etkenlerinin tarifi 1892'de Babes tarafından yapılmıştır. Starcovici 1893'de bu etkenlere *B. ovis* ismini vermiştir (39).

Göksu'ya göre (39), *Babesia ovis* Türkiyede ilk kez 1889 yılında Laveran ve Nicolle tarafından tespit edilmiştir. Ardından, Çelebi (1912) İstanbul'da, Abravanel ve Raif (1930) Bursa'da, Ekrem (1930) Etlik'te, Lestoquard ve Ekrem (1931) Karacabey harasında, Tüzdil (1936) Orta Anadolu'da, Özcan (1961)

Ankara ve civarındaki koyunlarda babesiosisin yaygın olarak görüldüğünü bildirmişlerdir (39).

4.2. Babesia ovis'in Sistematikteki Yeri:

Babesia türlerinin sistematikteki yerleri birçok yazara (14, 64, 95) göre farklılıklar göstermektedir. Babesia ovis'in sistematikteki yeri şöyledir (58);

Alem: Animale

Alt alem: Protozoa

Anaç: Apicomplexa

Sınıf: Sporozoea

Alt sınıf: Piroplasmia

Dizi: Piroplasmida

Aile: Babesiidae

Soy: Babesia

Tür: Babesia ovis

Babesia cinsi için günümüze değin bir çok isimler kullanılmıştır. Haematococcus, Pyrosoma, Piroplasma, Achromaticus, Nicollia, Nuttallia, Smithia, Rossiella, Rangelia, Microbabesia, Babesiella, Francaiella, Luhsia, Sogdianmella ve Pattonella, Babesia'nın sinonimidirler (69).

Koyunlardaki başlıca babesia türleri, Babesia ovis ve Babesia motasi'dir. Koyunlarda bulunduğu bildirilen diğer babesia türleri, Babesia foliata, B. taylori ve B. crassa'dır (26, 60).

Piroplasmida dizisinde, omurgalı hayvanların kan hücrelerinde yaşayan parazitler bulunmaktadır. Bu parazitler, konakçı olarak buldukları hayvanlarda ciddi hastalıklara sebep olmaktadır (50, 105).

4.3. Babesia Türlerinin Genel Morfolojileri:

Babesia türleri, farklı morfolojik yapıya sahiptirler. Genellikle küçük form ve büyük form olmak üzere iki form görülmektedir. Küçük form; yuvarlak, tek armut ve belirsiz bir açığa sahip çift armut şeklindedir. Büyük form; yuvarlak, oval veya armut şeklinde olabilir, ikili formun belirgin bir açısı vardır. Bu iki formdan farklı olarak, Hashemi- Fesharki ve Uilenberg'in bulmuş oldukları Babesia crassa ise, eritrosit içerisinde genellikle dördümlü yapıda bulunmaktadır (49). Babesiaların piroplasm formları, gelişme dönemine göre önce halka, sonra ameboid ve sonra armut biçimini almaktadırlar. Çift armut şekilleri birbirinden ayrılıp, hücreyi terk ederek öteki alyuvarlara girmekte ve tekrar yuvarlak veya halka şeklini almaktadırlar (33, 58, 60, 64, 69, 73, 77, 90).

Işık mikroskopunda, parazit vücudunun ayrıntıları gösterilememekle beraber, küçük ve büyük babesialar olarak bilinen iki grup parazit kolaylıkla ayırt edilebilmektedir. B. ovis 1-2,5 µm büyüklüğünde küçük bir babesia türüdür. Genellikle eritrositlerin periferinde bulunurlar. Parazitlerin çoğu yuvarlak ve eliptik formlardadırlar. Bununla birlikte nadiren çift armut ve anaplazmoid formlarına da rastlanmaktadır. Anaplazmoid şekiller hariç, diğerlerinde vakuol ortada aşikar olarak görülmektedir. Yuvarlak ve eliptik şekiller tek olarak buldukları gibi birbirlerine bitişik olarak da görülürler. B. motasi 2 µm eninde, 2.5-4 µm boyunda büyük bir babesia türüdür. Kan frotilerinde genellikle tek veya çift armut formunda görülürler. Yuvarlak-oval ve ameboid formları da vardır. Enfeksiyonun başlangıcında halka formları fazla iken, bir süre sonra armut

formları artmaktadır. Armut formları, aralarında dar bir açığı teşkil etmektedirler (64, 77, 90). Elektron mikroskopik incelemelerde babesiaların piroplazm formlarının üç kattan oluşan bir zarla çevrildiği tespit edilmiştir. En dışta ince bir dış membran, ortada mikrotubullerin bulunduğu orta membran ve en içte de üç tabakadan oluşan ve üzeri deliklerle kaplı olan iç membran yer almaktadır. Mikrotubullerin bulunduğu orta kat, parazitin küt ucunda sonlanmaktadır. Parazitin sitoplazmasında iki tip organel bulunmaktadır; birisi, **rhoptri** olarak adlandırılan büyük cisimler; diğeri, **mikronem** olarak adlandırılan küçük cisimlerdir. Yeni bir eritrosite giren parazit, iç membranını, mikrotubullerini ve kutup cisimciklerini kaybederek, sadece ince bir dış membran ile çevrilmiş olarak kalmakta ve eritrositin sitoplazmasına pinositozis yolu ile yerleşmektedir. Parazitin sitoplazmasındaki vakuollerde hemoglobin görülebilmektedir. Hemoglobin, parazit tarafından tamamen sindirilmektedir. Memeli hücrelerinde mevcut olan mitokondri, babesianın yapısında bulunmamaktadır. Fakat babesiaların sitoplazmalarında bulunan çift membranlı yapıların mitokondri görevi yaptıkları ileri sürülmektedir. Parazitin nukleusu nukleolus içermemektedir (28, 30, 32, 58, 64, 69, 105).

4.4. Babesia Türlerinin Genel Biyolojileri

Babesia türleri, biyolojilerinin büyük kısmını kenelerde tamamladıklarından dolayı, keneler parazit için esas konakçı durumundadırlar. Keneler, parazitin enfektif dönemi olan sporozoitleri enfestasyon süresince tükrük salgıları ile konakçılarına nakletmektedirler. Babesia türleri bir kene generasyonunun bütün dönemlerinde (yumurta, larva, nimf ve olgun) gelişmelerine devam edebilirler. Babesiosisde ergin kene paraziti almakta, fakat nakledememektedir. Enfeksiyon, ancak kenenin müteakip nesilleri vasıtasıyla

nakledilebilmektedir. Geçiş, yumurtadan larvaya, larvadan nimfe, nimfden ergin keneye ve tekrar dişi keneden yumurtaya olmaktadır (Transovarial nakil) (30, 33, 64, 69, 73, 77, 90).

Babesia'nın kene vücudundaki gelişmesi üzerine ilk araştırma 1906'da Koch tarafından yapılmıştır. Babesiaların gelişmesinde kenelerin önemi Riek'e kadar tam olarak açıklanamamıştır. Mahoney (69), Riek'in Babesia bovis ve Babesia bigemina'nın Boophilus microplus ile transovarial olarak nakledilmesi sırasında şekillenen olaylar zincirini açıkladığını bildirmiştir. Benzer bulgular Friedhoff (28, 30) tarafından, Babesia ovis'in Rhipicephalus bursa ile nakledilmesi üzerine de kaydedilmiştir. Friedhoff (28, 30), merozoit içeren eritrositlerin kenenin barsak hücrelerinde fagosite edildiğini ve siklusun basit bir şekil değişikliği ile başladığını ileri sürmektedir. Kene barsağında babesialar, eritrositik formdan (piroplasm form) tükrük bezlerindeki son safhaya (sporozoit) kadar morfolojik, metabolik ve antijenik olarak bir çok değişikliklere maruz kalmaktadırlar. Bu sebeple biyolojinin her dönemi için antijenik ve metabolik yapı farklı farklı olmaktadır. Kan emen kenenin barsağında piroplasm formlar, birkaç saat için konakçı eritrositinde kalmaktadırlar. Ancak, bu zaman süresince etkenlerin çoğu bozulmaktadır. Parazitin kene vücudunda gelişmesinin ilk safhası **gamogoni dönemi** olarak adlandırılmaktadır. Bu dönemde merozoitler kenenin barsak epitel hücrelerinde ikiye bölünerek çoğalmaktadırlar. Bu bölünme sonucu, birkaç saat içinde ışınsal bir yapıya sahip olan erkek ve dişi **gametositler** şekillenmektedir. Bu gametositlerden de 2 ila 4 gamet oluşmaktadır. Gamogoni döneminin son safhasında erkek gametin dişi gameti döllemesi ile, küresel bir yapıya sahip olan **zigot** oluşmaktadır. Zigot, kenenin barsağında bilhassa bazofilik epitel hücrelerini seçerek enfekte eder ve orada çoğa bölünmeye başlar. Ardından hücre genişler, çekirdek materyali sitoplazma boyunca küçük noktalar

şeklinde dağılır, daha sonra her çekirdek parçasının etrafı bir zar ile çevrilir ve sonra da kendiliğinden hareket edebilen çubuk şekilli **sporokinetler** (vermikül,kinet) oluşur. Bu sporokinetler 11- 15 µm uzunluğunda olup, geniş ve küt olan ucunda yoğun boya almış bir kep bulunmaktadır. Bunlar doymuş dişi kenenin tüm vücuduna yayılır ve şizogonik yolla çoğalmaya başlarlar. Bu bölünme dönemi kene ölünceye kadar devam eder. Sporokinetlerin üretimi kene vücudunda hemositlerde, ovaryumlarda, malpigi tubullerinde, trakea çevresindeki dokularda, epidermiste ve kasta meydana gelmektedir. Çoğalma, kenenin hemosit ve barsak epitel hücrelerinde devam etmektedir. Kenenin yumurtlama periyodu süresince sporokinetlerin üremeye devam etmeleri enfekte yumurtaların sayısını artırmakta ve transovarial nakil sonucu, yumurtalardan çıkan larvalar enfektif özellik taşımaktadırlar. B. ovis'in sporokinetleri Rh. bursa'nın hemolenfini, kene doyduktan 5 gün sonra istila etmektedirler. Etkenler kene doyduktan 6-7 gün sonra ovaryumlarda görülmekte, 7'nci günde en yüksek seviyeye ulaşmakta ve daha sonra 16'ncı güne kadar yavaş yavaş azalmaktadırlar. Sporokinetlerin bölünmesi embriyonda ve beslenme halindeki larva, nimf ve olgun kenelerin çeşitli organlarında devam etmektedir. Ovipozisyondan sonra sporokinetler kenenin yumurta sarısında çoğalırlar. Daha sonra larvaların barsak epitellerinde çoğalmaya devam eden sporokinetler, larvaların tüm dokuları boyunca yayılırlar. Enfekte yumurtadan çıkan larvaların gömlek değiştirmesinden sonra, parazitler nimflerin ve ergin kenelerin tükrük bezi hücrelerine geçerek, çoğalmaya devam ederler. Ardından binlerce **sporozoit** (enfektif form, protozoite, merozoit, küçük merozoit) üretilir ve bunlar da tükrük bezi hücrelerini parçalayarak tükrük kanallarına dökülürler. Bu nimfler ve ergin keneler konakçılardan kan emerken, tükrük bezlerindeki etkenleri konakçılarına aktarırlar (27, 28, 29, 30, 33).

Babesia'nın omurgalı konakçıdaki gelişme dönemine eritrositik dönem de denilmektedir (30). Babesialar, eritrositten başka hiç bir konakçı hücrelerini enfekte edemezler. Vektör kenenin, etkeni (sporozoit) konakçıya inokule etmesinden sonra etkenler, dolaşım kanına girerler ve eritrositlerde aseksüel olarak çoğalmaya başlarlar. Babesia türleri, anne hücrenin ikiye bölünmesi sonucu iki kardeş hücrenin şekillenmesi ile çoğalmaktadırlar. Aseksüel üremenin bu kısmı **merogoni dönemi**, armut formundaki kardeş hücreler de **merozoit** olarak adlandırılmaktadırlar (50, 69, 77, 79, 117).

4.5. Babesiosisin Epidemiyolojisi:

Babesia türleri heteroksen parazitlerdir. Biyolojilerinin bir kısmını koyun, keçi, sığır, köpek ve at gibi memelilerde, diğer bir kısmını da Ixodidae ailesindeki kenelerde geçirirler. B. ovis koyun ve keçilerde parazitlenir.

Babesialar Ixodidae ailesine bağlı keneler tarafından biyolojik olarak nakledilirler. Mekânîk nakil nadiren görülebilirse de (60), Friedhoff'a göre mekânîk nakil söz konusu değildir (30). Kan nakliyle ve prenatal yolla bulaşma mümkünse de, bu tür bulaşma epidemiyolojik açıdan önemsizdir.

Babesia türlerinin keneler tarafından naklinde genellikle iki şekil görülmektedir. Birincisi, **transovarial nakildir**. Bu çeşit nakilde, dişi kenenin babesiosisli hayvanlardan aldıkları etkenler, kenenin ovaryumuna ve oradan da yumurtalarına geçerler. Koyunların B. ovis ve B. motasi enfeksiyonları keneler tarafından transovarial olarak nakledilmektedir. Özkoç (86), Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü laboratuvarında 3.5 yıl boyunca B. ovis ile enfekte Rh. bursa'ları üretmiştir. Bu araştırmada (86) B. ovis, Rh. bursa'nın sekizinci evresine kadar transovarial olarak nakledilmiştir. İkinci bir nakil şekli ise **transtadial nakildir**. Theileria türlerinde olduğu gibi kene, etkenleri larva

döneminde almışsa nimf döneminde, nimf döneminde almışsa ergin dönemde nakledebilmektedir (27, 28, 29, 30, 33, 69).

Transovarial nakil vertikal veya alimenter yolla olabilmektedir. Vertikal nakil, enfeksiyonu nakletme yeteneğine sahip olan kenelerin tavşanlar üzerinde beslenmesi ile enfeksiyonun devamlılığının sağlanması durumudur. Alimenter nakil ise kenenin enfeksiyonu taşıyan bir konakçı üzerinde beslenmesi ile sağlanmaktadır. B.ovis'in vertikal yolla nakledilmesi üzerine birçok araştırma yapılmıştır (33, 34, 86). B. ovis ile enfekte olan bir Rh. bursa, tavşanlar üzerinde beslenirse, kenenin alimenter yoldan enfeksiyonu engellenmektedir. Bunun sonucu olarak kene, B.ovis enfeksiyonunu vertikal yolla nakletmektedir. Rh.bursa gibi iki konakçılı kenelerde babesiosisin laboratuvar şartlarında devamı vertikal yolla sağlanabilmektedir. Ancak, tek konakçılı kenelerde vertikal olarak enfeksiyonun devamlılığı sağlanamamaktadır. Vertikal yolla enfekte olmuş dişi bir Rh.bursa, ölünceye kadar ovaryumunda B.ovis'i muhafaza etmektedir. Bu yüzden kenenin yaşamı boyunca B.ovis enfeksiyonu devam etmektedir. B.motasi enfeksiyonunun devamlılığı vertikal yolla sağlanamamaktadır (33).

Alimenter yolla enfekte olan dişi keneler, ovipozisyon periyodunun ilk 32-48 saati boyunca, enfektif olmayan yumurta üretmektedirler. Bu yüzden Rh. bursa'nın dişilerinde transovarial enfeksiyon, kene doyduktan sonra 5-7. günlerde başlamaktadır (33). Hem alimenter ve hem de vertikal olarak enfekte edilen keneler, bütün ovipozisyon periyodu boyunca enfektif yumurta üretmektedirler. Rh.bursa'nın bir tek dişisi yaklaşık 4500 enfektif yumurta üretmektedir (33).

B.ovis enfeksiyonunda bir tek enfekte dişi kene, öldürücü bir enfeksiyona sebep olabilmektedir. Erkek keneler sekonder konakçıları enfekte edebilmektedir. Larva ve nimflerin enfeksiyonu yayabilmeleri, ancak binlercesinin birarada kullanılması ile gerçekleşebilmektedir (30, 89).

Babesiosisin naklinde rol oynayan bir çok faktör vardır. Bunlardan başlıcaları; enfeksiyonun gücü, ısı, nisbi nem ve ışık, kenelerin yaşı ve bağışıklıktır.

a. Enfeksiyonun gücü: Babesia'nın kene vücudunda çoğalması, yalnızca kenenin aktivasyon dönemi süresince meydana gelmektedir. Kenenin inaktif döneminde babesialar uyku döneminde beklemektedirler. Enfeksiyonu taşıyan bir kene, aktive edilir edilmez hücrelerinde bir proliferasyon başlar ve 1-2 gün içinde sporokinetler veya sporozoitler gelişirler. Kenenin ve babesianın aktivasyonuna sebep olan esas faktör, memeli konakçının vücut ısısının ve çevre ısısının yükselmesidir. Kenenin uygun ısıda inkubasyonu ile de benzer etkiler oluşturulabilmektedir. Gelişme bir kez başladığında, babesialar, kenenin bütün gelişme dönemleri boyunca belirli organlara yerleşerek, hücrelerde şekil değişikliğine sebep olmakta ve enfeksiyon normal gidişine devam etmektedir. Alimenter enfeksiyonlarda etkenler, yumurtaların şekillenmesinden sonra ovaryuma doğru ilerlemektedirler. Bu yüzden ovipozisyonun ilk dönemlerinde yumurtalar enfektif değildirler. Toplam yumurta sayısının ancak yarısı kadarı enfektif olmaktadır. Vertikal enfeksiyonda ise, etkenler yumurta şekillenmeye başlamadan önce ovaryuma yerleşmektedirler. Bu yüzden de yumurtalar bütün ovipozisyon periyodu boyunca enfekte olabilmektedirler. Vertikal ve alimenter enfeksiyonun birlikte görüldükleri durumlarda transovarial enfeksiyon daha iyi şekillenmektedir. Bununla birlikte vertikal enfeksiyonun varlığında alimenter enfeksiyon kısmen inhibe edilebilmektedir (31). Bu sebeple kombine enfeksiyondan sonra enfeksiyonun derecesi farklı olabilmekte ve yumurtaların yaklaşık olarak %90 kadarı enfektif olmaktadır (30, 33, 69).

b. Isı: Isı, babesianın bütün hayat siklusu boyunca gelişmesini sınırlayan bir faktör değildir. Düşük ısı, enfeksiyonu tamamen ortadan kaldırmamakla birlikte, aç dişi bir kenede transovarial nakli ve alimenter enfeksiyonu tam olarak inhibe edebilmektedir. Kan emmeyen kenelerde, çevre ısısının yükselmesi ile babesia enfeksiyonu aktive edilebilmektedir (30, 33). Babesialar kış aylarında, -30°C 'nin altındaki ısılarda, inaktif dönemde bulunan kenelerin bünyelerinde inaktif halde beklemektedirler. Kenenin aktif döneminde etkenler çoğalmaya başladıkları zaman, daha yüksek bir çevre ısısı gerekmektedir. Ancak, yüksek ısının (35°C gibi) devamı halinde ise, enfeksiyon inhibe olabilmekte, hatta tamamen ortadan kalkabilmektedir. Beslenmenin sağladığı uyarım, sıcak şok ile de harekete geçirilebilmektedir. Aç enfektif bir larva, 2-3 gün boyunca 37°C 'de inkubasyona tabi tutulursa, aktif hale geçebilmektedir. Ancak sıcak şok tek başına, beslenmenin sağladığı uyarım kadar etkili olamamaktadır (30, 33, 69).

c. Nisbî nem ve ışık: Nisbî nem ve ışık her ne kadar vektör kenelerin gelişmesi için önemli birer faktör iseler de, kenelerde babesianın gelişmesi için çok önemli değildirler (30, 33, 69).

d. Kenelerin yaşı: Keneler belli bir yaşta enfektif özelliklerini kaybetmektedirler. B. ovis ile enfekte erişkin bir Rh. bursa'nın enfeksiyon oranı laboratuvar şartlarında yükseltilebilmektedir. Ancak bu keneler 7,5 ay sonra enfektif özelliklerini kaybetmektedirler (30, 33, 69).

e. Bağışıklık: Koyunlarda *B. ovis* enfeksiyonundan sonra 6 aylık bir süre için hayvanlar ikinci bir enfeksiyona karşı dayanıklıdırlar. Ayrıca yeni doğan hayvanlarda da babesiosis'e karşı pasif bir bağışıklık vardır (11).

Babesiosisün nakledilmesini etkileyen diğer faktörler ise, kenelerin hassasiyet durumları, alimenter enfeksiyonun ve biyolojik çemberin kırılmasıdır (30, 33, 69). Ara konakçı keneler kullanılmaksızın memeli konakçılarda enfekte kanın seri pasajları sonucu, keneler için bazı babesia türlerinin enfektif özelliği kaybolmaktadır. Bu, bilhassa aşı suşlarında gösterilmiştir (28, 30, 33).

Konakçı spesifitesi, genetik yapı ve yaş gibi faktörler babesiosisün devamını nonspesifik olarak etkilerler (69). Hayvanlarda yaşa bağlı olarak enfeksiyona karşı duyarlılık farklı olmaktadır. En çok enfeksiyon 6-12 aylık hayvanlarda görülürken, 5 yaşın üzerindeki hayvanlarda enfeksiyon yaygın değildir (11).

Koyun babesiosisine bilhassa ılık ve tropikal bölgelerde rastlanmaktadır. Babesia türlerinin coğrafik dağılımları, bölgenin vektör keneleri ile direkt ilişkilidir. Yoğun bakım yapılan işletmelerde çok sayıda hayvanın birarada bulunması, enfeksiyonun kısa zamanda yayılmasına ve büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır.

Bugüne kadar elde edilen epidemiyolojik bilgiler öncelikle sığır babeziyozu ile ilgilidir. Hastalığın yayılma bölgesi endemik, marjinal ve enfekte olmayan bölgeler olarak sınıflandırılmaktadır. Endemik bir bölgeden endemik olmayan bir bölgeye hayvan nakilleri ile hastalık yayılabilmektedir (116).

B. ovis Güney Avrupa, İran, Romanya, Bulgaristan ve İspanya'da koyunlarda ciddi kayıplara sebep olmaktadır (39, 45, 76, 90).

Türkiye'de de babesiosis koyunlarda yaygın olarak görülmektedir (6, 21, 39, 44, 51, 59, 94, 97). Değer (21), Van ilindeki koyunlarda IFAT ile yaptığı

serolojik bir araştırmada %60.3, Gökso (39), Orta Anadolu'da koyunların mikroskobik kan muayenelerinde %24.82, akmak (19), Samsun yöresindeki koyunlarda mikroskobik olarak %67, serolojik olarak %72 oranında B. ovis tespit etmişlerdir. Babesiosis genellikle Mayıs ve Ağustos ayları arasında ortaya çıkmakta ve Haziran ile Temmuz aylarında en yüksek seviyeye ulaşmaktadır (21, 39, 59, 84). Parazitin kene vücudunda gelişmesi büyük oranda ülkenin iklim şartları ile ilgilidir (6, 115). Gökso (39), Türkiye'de koyun babesiosisinin en fazla görüldüğü ayların sırasıyla Temmuz, Haziran, Mayıs, Ağustos ve Eylül ayları olduğunu bildirmektedir. Özcan (84), Ankara ve civarında yapmış olduğu bir araştırmada, 4 yıllık ortalamaya göre koyunlarda babesiosisin en çok görüldüğü ayların, Temmuz (%41.1), Haziran (%39.9) ve Ağustos (%12.3) ayları olduğunu belirtmiştir. Van ilinde yapılan serolojik bir araştırmada (21), B. ovis'e karşı antikor titrelerinin Şubat ve Mart aylarında düşük, Temmuz ve Ağustos aylarında yüksek bulunduğu saptanmıştır. İsrail'de, koyunların kan parazitlerinin mevsimsel dağılımları üzerine yapılan bir araştırmada (89), B. ovis enfeksiyonunun Nisan, Mayıs, Haziran aylarında en yüksek seviyede görüldüğü bildirilmektedir. Pappadopoulos (88), Yunanistan'da 1983-1986 yılları arasında IFAT ile muayene ettiği 721 koyun serumunun %52.1'inde B. ovis, %10.5'inde B. motasi antikorları tespit etmiştir. Koyunlarda B. ovis ve B. motasi enfeksiyonları birlikte seyrettiği zaman enfeksiyonun şiddeti çok daha fazla olmaktadır (9). B. ovis ve B. motasi ile mix enfeksiyonlar sonucu Andhra Pradesh'deki koyunlarda mortalite oranı %30- 100'e kadar çıkmıştır (9). İspanya'da evcil ruminantlarda öldürücü babesiosis vakalarının araştırılması sonucu, koyunların kan muayenelerinde de B. ovis ve B. motasi'ye rastlanmış olup, enfekte hayvanlarda Rh. bursa ve H. punctata türü keneler tespit edilmiştir (106).

B. motasi Avrupa, Orta Doğu, Sovyetler Birliği, Güneydoğu Asya ve Afrika'nın bazı bölgelerinde görülmektedir (65, 72, 90). Türkiye ve İran'da B. ovis'e sık sık B. motasi ile birlikte rastlanmaktadır (90).

B. motasi'nin bazı suşları hem koyun, hem de keçiler için enfektif olmasına rağmen, bazı suşları sadece koyunlar için enfektif olmakta ve enfekte kanın inokule edildiği keçilerde babesiosis şekillenmemektedir. Uilenberg (104), Enigk ve ark.'a atfen, B. motasi'nin Danimarka suşunun keçiler için enfektif olmadığını bildirmektedir. B. motasi enfeksiyonuna karşı bir ırk direncinin olduğu ileri sürülmektedir (28, 30, 90).

B. ovisin en önemli ara konakçısı Rh. bursa'dır. Ayrıca Rh. turanicus, Hyalomma anatolicum excavatum, Ixodes ricinus ve I. persulcatus'un da B. ovis'in vektörü olduğu bildirilmektedir (28, 30, 33, 40, 41, 58, 60).

B. motasi'yi nakleden ara konakçı kene türleri Rh. bursa, H. punctata, H. otophila ve nadiren de Ixodes ricinus'tur. Sudan'ın batısında ortaya çıkan bir babesiosis vakasında koyunlarda B. motasi tespit edilmiş ve bu koyunların vücutlarında da Rh. evertsi ve Rh. sanguineus türü keneler bulunmuştur (78).

B. motasinin yaygın olarak görüldüğü Avrupa, Orta Doğu, Sovyetler Birliği, Güneydoğu Asya ve Afrika'da (65, 72, 90) Haemaphysalis'lere sık olarak rastlanmaktadır. Uilenberg'e (103, 104) göre, B. motasi'yi sadece H. punctata nakledebilmektedir.

Bulgaristan'daki sığır ve koyunlarda piroplazmosisin epidemiyolojisi üzerine yapılan bir araştırmada (102), koyunların %64'ünde, sığırların %62'sinde 10 tür kene tespit edilmiştir. Bu türlerin Hyalomma scupense, H. plumbeum, Rh. bursa, Rh. turanicus, Haemaphysalis punctata, H. inermis, H. sulcata, Ixodes ricinus, Dermacentor marginatus, Boophilus calcaratus olarak tanımlanmışlardır (102).

Kenelerin larva, nimf ve erginleri balıklar dışındaki omurgalı hayvanlardan, özellikle memeliler ve kuşlardan kan emerek beslenmektedirler. Dişi ixodidler döllenip kanla doyunca konakçıları terkederek, kuytu bir yerde yumurtladıktan sonra ölmektedirler. Yumurtalardan çıkan larvalar ise uygun konakçılara saldırılmaktadırlar. Yumurtadan sonraki her gelişme döneminde konakçılarından bir kez kan emen ixodidler, beslenme süreleri dışında çayır ve meralarda, çalı ve otlar üzerinde gizlenmektedirler. Sert kenelerin erkekleri dişilerine göre daha az beslenmekte ve daha az parazitlik yapmaktadırlar. Babesidae ve Theileridae ailelerinde incelenen protozoon türlerinin konakçılarına taşınmaları kenelerin vektörlüğü ile mümkün olmaktadır (42, 64, 69, 73, 77, 90, 92).

Koyunlarda B. ovis enfeksiyonlarının yayılışı ile ara konakçı kenelerin mevsimsel etkinlikleri arasında sıkı bir ilişki vardır. Özkoç ve ark. (87), Marmara Bölgesinde Rh. bursa'nın mevsimsel etkinliğinin, koyunların B. ovis enfeksiyonu ile ilişkisi üzerine çalışmışlardır. Bu araştırmaya (87) göre, olgun Rh. bursa merada ve koyunlarda Mayıs ayının ikinci yarısından sonra bulunmuş ve bunu izleyen günlerde koyunlarda B. ovis enfeksiyonları başlamıştır. Meradan ve B. ovis'le enfekte koyunlardan toplanan olgun dişi Rh. bursa'nın yumurtalarında ve tükrük bezlerinde B. ovis'in değişik gelişme formları saptanmıştır. Marmara bölgesinde B. ovis enfeksiyonları olgun Rh. bursa'nın mevsimsel etkinliği ile başlamakta, Haziran ve Temmuz aylarında en yüksek seviyeye ulaşmaktadır (87). Göksu (40), Rh. bursa'nın epidemiyolojisi üzerine yaptığı bir araştırmada, iki konakçılı olan bu kenenin Ekim, Kasım ve Aralık aylarında larva ve nimflerinin; Haziran ve Temmuz'da ise imagolarının koyun ve keçilerden kan emdiklerini ve babesiosis etkenlerini naklettiklerini belirtmiştir. İsrail'de, Rh. bursa'nın mevsimsel dağılımı ve koyun babesiosisi ile ilişkisi üzerine yapılan bir

araştırmada (113), Rh. bursa'nın larva ve nimflerinin Ekim ayında görülmeye başladığı, Aralık ayında en yüksek düzeye çıktığı, imagolarının ise Mart ayından Temmuz ayına kadar görüldüğü bildirilmiştir. Yeruham ve ark. (114)'nin İsrail'de yaptıkları bir araştırmada, Rh. bursa'nın larva ve nimflerine, Kasım ve Mart ayları arasında; imagolarına ise Nisan ve Temmuz ayları arasında rastlandığı kaydedilmiştir.

4.6. Babesiosisde Bağışıklık:

Tek hücreli olmalarından dolayı protozoonlara karşı oluşan immunolojik reaksiyonlar, bakterilerdekine benzemektedir. Bakteriyel enfeksiyonlarda olduğu gibi, protozoon enfeksiyonlarında da humoral veya hüresel reaksiyonlar görülmekte, nadiren de her ikisi birden ortaya çıkmaktadır.

Babesiosise karşı kazanılmış bağışıklık antikorlar ile sağlanmaktadır. Bu antikorlar humoral bağışıklığın yanı sıra, bir opsonin gibi hareket etmekte ve enfekte eritrositlerin dalak makrofajları tarafından fagosite edilmelerini de kolaylaştırmaktadır. Ayrıca babesia türlerinin kimyasal ürünleri, humoral immun cevapta etkin bir role sahip olan Komplementi de aktive etmektedir.

Babesia türleri ile enfekte olan evcil hayvanlarda bu türlere karşı özel antikorlar tespit edilmiştir. Babesiosisde şekillenen antikorların bir kısmı aktif kazanılmış bağışıklıkta görev alırken, bir kısmı da pasif olarak annenin kolostrumu ile yeni doğan hayvanlara geçmekte ve onları babesiosise karşı korumaktadırlar.

Hayvanlarda babesia türleri ile doğal enfeksiyondan sonra, kuvvetli bir bağışıklık meydana gelmektedir. Eğer enfeksiyon defalarca nks ederse, bağışıklık sürekli olmaktadır. Hasta hayvanlar hemen ve etkili bir şekilde tedavi edilirse ve antikorlar henüz şekillenmeden önce protozoon öldürülürse, hiç bir

bağışıklık oluşmamaktadır. Hayvanlarda enfeksiyondan sonraki 6 ay için, steril bir bağışıklık devam etmekte ve konakçı bir yıl kadar bir süre sonra enfeksiyona karşı tekrar duyarlı olmaktadır (11, 112). Bobade ve ark.(13)'nın yaptığı bir araştırmada, endemik bir bölgedeki köpeklerde B. canis enfeksiyonuna karşı hassasiyet durumları incelenmiş ve B. canis ile enfekte olan ve enfeksiyon riski yüksek olan hayvanlarda B. canis enfeksiyonuna karşı çok yüksek bir direnç bulunmuştur.

Babesiosisde akut enfeksiyondan sonra hayvanlardaki iyileşme, immun cevap ile ilişkilidir. İmmun cevap, aynı tür etken ile tekrarlanan enfeksiyondan sonra hastalığın oluşumunu önlemektedir. Bağışıklık, parazitin vücuda girişini önleyememekte, ancak üremesini sınırlandırabilmektedir. Doğal şartlar altında ilk enfeksiyon, hayvanı ikinci enfeksiyona karşı korumaktadır. Mahoney (69), Callow ve ark.'na atfen , ilaç tedavisi ile B. bovis enfeksiyonunun ortadan kaldırılmasından sonra bağışıklığın 6 ay daha devam ettiğini bildirmektedir. Bir tek enfeksiyondan sonra bağışıklığın devam etmesi durumu epizootiyolojik öneme sahiptir ve hastalığın kontrolünde önemlidir. Alabay ve ark.(2), B. ovis veya B. bovis'e karşı immun cevabı ölçmek için, bu etkenlerin ham ekstraktları ile deney hayvanlarına inokulasyon yapmışlar ve 3 hafta sonra tekrarlanan bir enfeksiyonda deney hayvanlarının enfeksiyona direnç gösterdiklerini bulmuşlardır. Bu çalışma enfekte hayvanların plazmalarının, müteakip bir enfeksiyona karşı korunma sağladığını göstermektedir. Callow ve ark.(17), sığırlarda B. bigemina'ya karşı bir bağışıklığın oluştuğunu IFAT ile tespit etmişlerdir.

Hall ve ark. (47), B. bigemina ve B. bovis'e karşı bağışıklığın anneden yavruya kolostrumdaki antikolar ile aktarıldığını belirtmektedirler. Mahoney (67), splenektomi yapılmış danalara antiserum vererek B. bovis'e karşı doğal

enfeksiyondaki gibi etkin bir bağıışıklık sağlamayı başarmıştır. Fagositozun artması ve enfekte hücrelerin sindirilmesi ve eritrosit membran geçirgenliğindeki değişiklikler sonucu antikorların eritrosit içine girmeleri sonucu etkenler yok edilebilmektedir. Fagosit hücreler, eğer canlı organizmaları sindirmek için yeterli miktarda iseler, korunmada önemlidirler. Oponinlerin mevcudiyetinde ve hatta makrofajların uyarılması ile korunma artmaktadır. Dalak, bilhassa ilk enfeksiyondan sonra konakçının canlılığını devam ettirebilmesinde büyük öneme sahiptir (69, 70).

Çapraz reaksiyonlar ve çapraz immunité: Antijenik varyasyon, protozoon parazitler arasında iyi bilinen bir özelliktir. Bazı parazitlerin, çevresel bir uyarıma karşı veya spesifik bir antikora karşı gösterdikleri dirençte önemli role sahip olan spesifik yüzey antijenleri vardır. Bu durum ilk kez trypanosomalarda gözlenmiştir. Daha sonraları Plasmodium ve Babesia cinslerinde de bu özelliğin varlığı tespit edilmiştir. Bu yüzey antijenleri değişken bir özelliğe ve antijenik spesifikliğe sahiptirler. Bu sebeple çapraz reaksiyon nadiren görölmektedir (69).

Çeşitli kan parazitlerine karşı oluşan antikorlar, heterolog antijenler ile de etkileşebilmektedirler. Ortak epitoplardan dolayı oluşan çapraz reaksiyonların sonucu yanlış pozitif değerler alınabilmekte ve bunun sonucu olarak testin spesifitesi azalabilmektedir. Çapraz reaksiyonlar, bir soy içinde olabildiği gibi, başka parazitlerden de kaynaklanabilmektedir. Örneğin; Nierlich (82), Gray ve ark.'na atfen B. bigemina ile Theileria parva ve T. annulata arasında, Waltisbuhl ve ark.'na atfen de A. marginale ile B. bovis antijenleri arasında çapraz reaksiyonların olduğunu belirtmektedir. Nierlich (82), James ve arkadaşlarının B. bovis ile Plasmodium falciparum arasında IFAT ve ELISA'da çapraz

reaksiyon olduğunu bildirdiklerini ifade etmektedir. Serolojik testlerde antiserum ile şiddetli reaksiyon gösteren antijenleri (immunodominant antijenler) koruyucu antijenlerle özdeşleştirmemek gerekir. İmmunodominant antijenlerden hastalıkların serodiagnozu için istifade edilebilmektedir. Theileria sergenti antikorlarının IFAT ile teşhisinde B. ovata antijenleri kullanılabilir (82). Düzgün ve ark.(24) da B. bovis antijenini kullanarak, B. ovis enfeksiyonunu ELISA ile teşhis etmişlerdir. Koyunlarda B. ovis ve B. motasi'nin morfolojik ve antijenik yapıları farklıdır. Habela ve ark.(45) tarafından yapılan bir araştırmada, bu iki tür arasında çapraz reaksiyon olmadığı belirtilmektedir.

4.7. Babesiosisin Semptomları:

Babesiosis'in klinik görünümünde iki sebepten dolayı büyük farklılıklar görülmektedir.

Birincisi; Babesia cinsindeki türler, hatta türler içindeki suşlar, tek tipte bir patojenite göstermemektedirler. Örneğin, B. bigemina'nın Avustralya suşu nadiren hastalığa sebep olurken, Afrika suşu çok patojendir (104). B. bovis'in beyin ve böbrekteki kapillar damarlara yerleşme eğilimi vardır ve sık sık bu organlarda hasara sebep olarak klinik belirtilerin şekillenmesine yol açar. Oysa B. bigemina çoğunlukla dolaşım kanında bulunur ve klinik görünüm hemolitik anemiye benzemektedir (111).

İkincisi; konakçının duyarlılığı, yaş, ırk, stres ve pasif bağışıklık gibi faktörlere bağlı olarak klinik görünüm değişiklik gösterebilmektedir. Koyunların B. ovis enfeksiyonlarında perakut görünümünden subklinik vakaya kadar, hastalığın bütün dereceleri ile karşılaşılabilmektedir. İlk klinik görünüm, perifer kandan hazırlanan frotilerde parazitin görülmeye başlaması ile belli olmakta ve genellikle vektör kenenin beslenmeye başlamasından sonraki 8-16 gün içinde

meydana gelmektedir. Enfekte kanın enjeksiyonundan sonra ise, hastalığın kuluçka süresi daha uzun sürmektedir. Bu süre, inokule edilen canlı organizmanın sayısına ve takip ettiği yola bağlıdır. Hastalıkta paraziteminin yükselmesine paralel olarak rektal ısı da artmakta ve 2-3 gün içinde 41-41.5°C'ye ulaşmaktadır. Bu dönemde hayvanlar durgun ve iştahsız olup, tüylerde kabarıklık dikkati çeker. Hastalığın ilerlemesi ile hemoglobinemi ve hemoglobinuri, takiben de sarılık meydana gelmektedir. Dışkı kuru ve kanlı olmaktadır. Gözler, dehidrasyon sebebiyle göz yuvasına çökmektedirler. Kaslarda titreme, zayıflık ve dış gıcırdatması görülür. B. bovis ve B. canis'in bazı suşlarından ileri gelen enfeksiyonlarda beyin hasarından dolayı, bacaklarda ataksi, delilik ve koma hali görülmektedir. Ölümden birkaç saat önce rektal ısı normal seviyenin altına düşmektedir. Hastalığın akut dönemini atlatan hayvanlarda iyileşmeyle birlikte, perifer kandaki parazitler de yok olmaktadır. Bu olay 24-48 saat içinde şekillenmekte ve rektal ısı ile iştah hızla normale dönmektedir. Hastalığın subklinik olarak seyrettiği durumlarda, klinik görünüm paraziteminin seviyesine göre değişiklik arz etmektedir. Örn. sığırlarda öldürücü B. bovis enfeksiyonunda 1 mm³ kandaki etken sayısı 15.000'e kadar çıkmaktadır. Öldürücü olmayan akut olaylarda ise 1 mm³ kandaki etken sayısı 5.000 kadardır. Genç hayvanlar hafif enfeksiyonlara karşı dirençlidirler ve 1 mm³ kanda 1.000'den fazla etken bulunmamaktadır. Hastalığın hafif seyrettiği durumlarda da rektal ısı yükselmekte (39-40° C), iştahsızlık ve depresyon görülmektedir. Subklinik vakalarda genellikle hemoglobinuri görülmez. Fakat hafif bir sarılık görülebilmektedir (58, 60, 64, 69, 73, 90, 92, 110).

B. motasi'nin semptomları; ateş, makrositik hipokromik anemi, iştahsızlık, ağırlık kaybı, halsizlik, öksürme ve ishaldir. Nötrofiliden dolayı bir lökositöz başlangıcı vardır. Alani ve Herbert (3)'in koyunlarda B. motasi'nin

patogenezi üzerine yaptıkları bir araştırmada, kandaki bilirubin seviyesinin, Serum Glutamic Pyruvic asit Transaminazların (SGPT), total serum proteinlerinin ve kan üre nitrojeninin yükseldiği belirtilmektedir.

Babesiosiste subklinik enfeksiyon konakçının durumuna ve Babesia türüne bağlı olarak uzun yıllar devam edebilmektedir. Örn.: B. bovis ile enfekte olan sığırların, kanlarında etkenleri yıllarca taşıdıkları gözlenmiştir (69).

Serumda transaminazlar (SGOT, SGPT), alkalın fosfataz, konjuge olmamış bilirubin ve kan üre nitrojen seviyelerinde bir yükselme ve enfeksiyonun geç döneminde kalsiyumda bir azalma görölmektedir. Total serum proteinlerinde ise biraz azalma dikkati çekmektedir. Plazma fibrinojeninin yapısında da değişiklikler olmaktadır (39, 46, 60, 69, 77, 110, 111).

4.8. Babesiosis'in Patolojisi:

B. ovis enfeksiyonunda kandaki parazitlerin çoğalmasına paralel olarak eritrosit yıkımı görölmektedir. Trombosit hacmi, eritrosit miktarı ve hemoglobin düzeyi %50'ye kadar düşmektedir. Akut hemolitik faz boyunca retikülositlerin görölmesi ile normositik ve makrositik anemi şekillenmektedir (46, 60, 64, 69, 77, 105, 111).

Babesiosisten ölen koyunların otopsilerinde, makroskobik olarak abdominal organlarda, bilhassa dalakta büyüme ve kanlanma, beyinde konjesyon, akciğerlerde peteşiyel kanamalar, sarılık, koyu kırmızı idrar, kalın granüllü safra ve epikardiyum ile endokardiyumda hemoraji görölmektedir. Perikard kesesi kanlı bir sıvı içermektedir. Akut hastalıktan ölen hayvanlarda damarlar içindeki kanın pıhtılaşmış olduğu görölmektedir. Subakut vakalarda karkas zayıf, solgun ve sarıdır. İç organlar kabarık ve kızarık olarak görölmektedir. Safra kesesi kalın granüllü safra ile genişlemiştir. Mikroskobik olarak karaciğerde nekroz odakları,

kupfer hücrelerinde hemosiderin birikimi vardır. Makrofajların çoğu enfektif eritrositleri içermektedirler. Böbrekler büyümüşür ve koyu renklidirler, interlobuler kapillarlarda kızarıklık vardır ve fazla sayıda parazitli hücre içerebilmektedirler. Böbreğin tubuler epitelyumunda dejenerasyon ve dökülme görülmektedir. Glomerulusların retiküler hücrelerinde ve intersitisyel makrofajlarda hemosiderin birikimi vardır. Sidik kesesi kırmızı-kahverengi idrar içermektedir. Akciğerler, kalp kası, dalak ve lenf nodüllerinde konjesyon görülür. Dalak ve lenf nodüllerinde germinal merkezlerde deplesyon (tüketim) vardır. Retiküler dokularda hiperplazi ve çok sayıda hemosiderin içeren makrofajlar görülmektedir (46, 52, 60, 64, 69, 111).

Babesiosisin patogenezinde konakçıda oluşan şu iki olay merkezi bir role sahip görülmektedir. 1. Farmakolojik olarak aktif maddelerin salgılanması, 2. Eritrositlerin yıkımı. Babesia enfeksiyonunda , eritrosit yıkımından hemen önce plasmadaki kallikrein aktif hale geçmektedir. Bu olay, enfeksiyonun başlamasından hemen sonra antijen-antikor reaksiyonu veya doku hasar ürünleri ile ilgili olarak meydana gelmektedir. Parazitler in vivo ortamda plazmadaki kallikreini aktive eden maddeler salgılamaktadırlar. Kallikrein üretimi ile vasküler permeablite ve vasodilatasyon artmakta, bunun sonucu olarak da dolaşımda durgunluk ve şok meydana gelmektedir. Babesia enfeksiyonunun son safhaları yüksek parazitemi (%20 üzeri) ve çok düşük hematokrit (%10'dan az) ile karakterizedir (11, 39, 60, 69, 77, 111).

Babesiosisde eritrositlerin yıkımı ile çoğalmaya devam eden parazitler hız kazanmakta ve hematokrit değerinde çok hızlı bir düşüş görülmektedir. Şoktan dolayı anemik anoksi ortaya çıkmakta ve ardından iç organlarda hasar şekillenmektedir. Hemoglobin gibi konakçı proteinlerinin salgılanması karaciğer ve böbrek harabiyetini artırmaktadır. Hastalığın son safhalarında hemolitik

aneminin etkisi ve doku yıkımı ürünleriyle ilişkili olarak patolojik olaylar şiddetlenmektedir (11, 69, 77, 96, 110, 111).

4.9. Babesiosisin Teşhisi:

Kene sezonunda hayvanlarda yüksek ateş, anemi ve hemoglobinuri gibi belirtilerin tespit edilmesi, hastalığın babesiosis olabileceğini akla getirirse de, kesin teşhis kan frotilerinde etkenlerin görülmesiyle konur. Bunun için koyun, keçi ve sığır gibi hayvanların kulak ucundan birer damla kan alınarak sürme ve kalın damla frotiler hazırlanır. Sürme frotiler metil alkolle (metanol) tespit edildikten sonra, kalın damla frotiler ise tespit edilmeden Giemsa ile boyanır ve mikroskopta immersiyon objektifte incelenir. Eritrositlerde piroplasm formlarının görülmesiyle teşhis konur.

B. ovis'in piroplasm formları 1-2,5 µm büyüklüğündedir. Etkenlerin çoğu yuvarlaktır ve eritrositlerin periferinde bulunmaktadır. Çift armut formları da mevcuttur (27, 28, 30, 33, 69, 77, 90). B. motasi, büyük bir babesia türüdür. Kan frotilerinde en çok 2 µm eninde, 2,5-4 µm boyunda olan tek veya çift armut formlarına rastlanır. Çift armut formunda iken, hastalığın akut olduğunu göstermektedir. B. motasi, B. ovis'in tersine eritrositlerin ortasında bulunmaktadır (4, 77).

Babesiosisde bilhassa paraziteminin tespiti için sürme ve kalın damla frotilerin kombinasyonu uygun görülmektedir. Bu teknikte boyama, alkyl phenoxy polyethoxy ethanol (APPE) içeren fosfat tamponlu Giemsa boya solüsyonu ile yapılmaktadır (15). Babesiosisde, eğer hayvan ölmüşse böbrek, kalp kası, dalak ve karaciğerden frotiler yapılır. B. bovis ve B.canis enfeksiyonlarında beyinden de frotiler hazırlanır. Organ frotileri test edilmeden önce 22°C'de 5 gün bekletilmelidir Johnston ve ark. (54), sığırlarda babesiosisin

post-mortem tanısında, mikroskopik muayene ile Fluoresan Antikor testini kıyaslamışlardır. Bu araştırmaya (54) göre B. argentina'nın teşhisi beyin giemsa ile boyanmış sürme frotilerinde ölümden 28 saat sonrasına kadar, kalp, akciğer ve böbrekten hazırlanan sürme frotilerde ise ölümden 8 saat sonrasına kadar yapılabilmektedir. Direkt Fluoresan Antikor testi ile ölümden sonra kalp ve akciğer frotilerinde 12 saat, böbrek frotilerinde 16 saat, beyin frotilerinde 28 saat içinde B. argentina tespit edilmiştir (54). Aynı araştırmada (54), B. bigemina enfeksiyonunun ölümden hemen sonra kalp, akciğer ve böbrek frotilerinde teşhis edilebildiği, sonraki saatlerde ise morfolojik yapısının B. argentina'ya benzediği bildirilmektedir. Bu sebeple ölümden hemen sonra yapılan muayene daha sağlıklı sonuçlar vermektedir (11, 58, 64, 69, 77, 105, 111).

Babesiosisin karakteristik bir özelliği, etkenlerin akut enfeksiyondan sonra iyileşen hayvanlarda varlıklarını devam ettirmeleridir. Böyle hayvanlarda paraziteminin çok düşük seviyede olmasından dolayı, kan frotilerinin muayenelerinde etkenler kolayca tespit edilememektedirler. Bu yüzden, Babesia türüne spesifik antikorları tespit etmek için, serolojik metodlar geliştirilmiştir. Serolojik testlerde kullanılan antijenler, akut babesiosisli hayvanların parazitli eritrositlerinden, plazma, serum veya dokularından hazırlanmakta ve bir çok serolojik testte kullanılmak tadırlar (101). Hastalığın sublinik döneminde frotilerin incelenmesi her zaman yeterli olmadığından, babesiosisi tespit etmek için, mutlaka serolojik testlerden yararlanılması gerekmektedir. Babesiosisin yayılışı ile ilgili epidemiyolojik araştırmalarda, immunoseroloji eşsiz bir uygulama alanıdır. Doğal veya deneysel babesiosise karşı oluşan antikorların ölçülmesinde kullanılan bir çok immunodiagnostik metot vardır (69, 101, 109).

Serolojik testlerin sensitivite ve spesifiteleri, kullanılan antijenin hazırlanmasına bağlıdır. Günümüzde uygulanan serolojik testlerin çoğunda,

kullanılan antijenlerin primer kaynağını, en yüksek parazitemi derecesinde bulunan enfekte hayvan kanı oluşturmaktadır. Deneysel çalışmalarda babesiosis, antikoagulantlı enfekte kanın intravenöz, subkutan veya intraperitoneal olarak enjekte edilmesi ile oluşturulmaktadır. Babesialar antikoagulantlı kanda, 18-25°C'lik bir ısıda uzun süre (en az 1-2 hafta, en fazla 6 hafta) muhafaza edilebilmektedir. Babesiaların virulansı, karkas sertleştiği zaman hızla kaybolmaktadır. Küçük damarlarda, ortamın asidifikasyonundan dolayı etkenler uzun süre virulent olarak kalamazlar. Büyük damarlarda ise virulans günlerce devam edebilmektedir. Bu sebeple ölümden hemen sonra büyük damarlardan alınan enfektif kan, deneysel çalışmalar için kullanılabilir. Enfekte kanın -10 ile -15°C'de dondurulması, etkenlerin 12 saat içinde ölmelerine sebep olmaktadır. Ancak, enfekte kan -70°C'de veya likit nitrojende muhafaza edilirse, yıllarca virulent olarak kalabilmektedir (27). Deneysel enfeksiyonlarda kullanılan parazitlerin suşu mümkün olduğu kadar doğal suşlara yakın olmalıdır. Pasaj sayısının artması antijenin spesifikliğini azaltabilmektedir. Antijen üretimi için paraziteminin mutlaka yüksek olması gerekmektedir. Bunu sağlamak için, hayvanlara splenektomi operasyonunun yanısıra, immün sistemi baskılayıcı ilaçlar uygulanmaktadır. Parazitemi oranı %2'den az olan kandan hazırlanan antijen, Komplement Fiksasyon Testinde zayıf reaksiyon vermektedir (1, 68, 71, 109).

Akut ve kronik babesiosisin teşhisi için çeşitli serolojik testler kullanılmaktadır. Bunlar, Komplement Fiksasyon Testi (KFT) , Indirekt Floresan Antikor Testi (IFAT), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Pasif aglutinasyon testi, Radyoimmunoassay (RIA), Indirekt Hemaglutinasyon Testi (IHA), Enzim immunoassay (EIA), Latex aglutinasyon testi (LA), Kapillar aglutinasyon testi, Slide ve Kard aglutinasyon testleridir. Serolojik testlerde,

genellikle enfekte hayvanın kan serumunda şekillenmiş olan, etkene özel antikolar tespit edilmektedir (11, 69, 99, 109).

Babesia'ya karşı oluşan antikoların tespiti için geliştirilmiş olan ilk serolojik test, **Komplement Fikzasyon testidir (KFT)**. Bu test B. bigemina, B. bovis, B. equi, B. caballi, B. canis, B. argentina ve B. ovis enfeksiyonlarının teşhislerinde kullanılmaktadır. Bu test, Mahoney (66, 68) tarafından B. bigemina ve B. argentina enfeksiyonlarının teşhisinde kullanılmıştır. Kyurtov (62), B. ovis'e karşı oluşan antikoları tespit etmek için KFT'ni kullanmıştır. Kullanılan antijen, işlenmemiş ham parazit süspansiyonu ve bu materyalin ham parçalarından oluşmaktadır. Bu testin spesifitesi sığırlarda çok yüksektir. Yanlış pozitiflik oranı %1-2 civarındadır. Bu testte antikoların enfeksiyondan sonra yalnızca bir kaç ay için tespit edilebilmesinden dolayı, testin sensitivitesi düşüktür. Enzootik durumlar için etkili bir diagnostik metot değildir (69, 82, 101, 109).

İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT), KFT'den daha spesifik ve daha hassastır (61). Tenter ve Friedhoff (98), Babesia enfeksiyonlarının daha iyi teşhis edilebilmeleri için KFT ve IFAT'ın kombine kullanılmasını tavsiye etmektedirler. IFAT ile tespit edilen antikolar, enfeksiyonun başlamasından kısa bir süre sonra yükselmeye başlamakta ve uzun bir süre devam etmektedir. Ancak spesifite ve sensitivite, kullanılan antijenin hazırlanma şekline göre değişebilmektedir. Bu test için antijen hazırlanması kolaydır. Enfekte eritrositler direkt olarak özel hazırlanmış temiz lamalar üzerine damlatılır. Bu lamalar fikse edilerek veya fikse edilmeden kullanılabilir. Bu testin sensitivitesi yüksektir (%97-98). Johnston ve ark.(53), sığırlarda B. argentina'nın teşhisinde

IFAT'ni uygulamışlar ve güvenilirlik derecesini %95, yanlış pozitiflik ve yanlış negatiflik oranlarını da sırasıyla (0,02- 0,05) ve (0,001-0,01) olarak bildirmişlerdir. Ross ve Löhr (93), sığırlarda B. bigemina enfeksiyonunun serolojik teşhisinde IFAT'ni çalışmışlar ve %100 güvenle kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Morzaria ve Young (81), IFAT ile, kene vücudunda babesianın gelişme dönemlerini tespit etmişlerdir. Özkoç (85), koyunlarda B. ovis enfeksiyonunun IFAT ile tespiti üzerine yaptığı araştırmada, bu testin çok duyarlı olduğunu belirtmiştir. Daha bir çok araştırmacı (5, 17, 18, 19, 35, 63, 93) IFAT'ni babesiosisin teşhisinde başarıyla kullanmışlardır. Bu test babesia enfeksiyonlarının teşhisinde tercih edilen metodlardan birisidir (69, 82, 101, 109).

Aglutinasyon testlerinden, **İndirekt Hemaglutinasyon (IHA)** testinin babesiosisin teşhisinde ilk kez 1967'de Curnow ve Curnow tarafından kullanıldığı bildirilmektedir (82). Bu yazarlar, sığır babesiosis'inin teşhisi için, B. argentina antijenleri ile duyarlı hale gelmiş koyun eritrositlerini kullanmışlardır. Bu testin spesifite ve sensitivitesi KFT'de olduğu gibidir (69, 82, 101, 109).

Humoral immun cevabın ölçülmesinde kullanılan diğer aglutinasyon testleri; tüp aglutinasyon, pasif hemaglutinasyon, bentonit aglutinasyon, jel presipitasyon, lateks aglutinasyon, kard aglutinasyon ve slide aglutinasyon testleridir. Goodger ve Mahoney (36), sığırlarda B. argentina enfeksiyonunun teşhisinde Pasif hemaglutinasyon testinin rutin bir laboratuvar metodu olduğunu ve bu enfeksiyonun teşhisinde %99.3 sensitiv olduğunu belirtmektedirler. Direkt aglutinasyon testi, sahada belli bir antijen ile şüpheli bir serum veya plazmanın karıştırılması ile yapılmaktadır. Basit ve hızlı olan bu test, sürülerde hastalığın kontrol edilmesi ve veterinerler tarafından saha şartlarında hastalığın hemen

tanınması açısından, önemli gelişmelerden birisi olarak kabul edilmektedir (37, 100).

Babesiosis'in teşhisinde kullanılan bir diğer serolojik test **Radyoimmunoassay (RIA)**'dir. Nierlich (82), Kahl ve arkadaşlarının B. bovis ile doğal ve deneysel olarak enfekte sığırlarda RIA ile B. bovis antikorlarını tespit ettiklerini bildirmektedir. Bu test IFAT ile iyi bir korelasyon göstermektedir. RIA, B. bovis enfeksiyonunun teşhisinde oldukça spesifik ve sensitiv olarak bulunmuştur. Ancak, RIA ile çalışmak için özel donatılmış laboratuvarlar gerekmektedir. Çünkü çalışmalarda kullanılan radyoaktif izotoplar, personel sağlığı için tehlike arz etmektedir. Bu teknik, babesiaların teşhisi için geniş bir kullanım alanı bulamamıştır (69, 82, 101, 109).

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) testi de babesiaya karşı oluşan antikorların tespit edilmesinde kullanılan çok hassas ve ekonomik bir testtir (25). Bu teknik, paraziter hastalıkların tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. ELISA testi ile babesia türlerine karşı oluşan antikorların tespiti, ilk kez Purnell ve ark.(91) tarafından gösterilmiştir. Bu araştırmacılar (91) B. divergens ile enfekte sığır serumu ve homolog somatik ekstrakt antijeni kullanmışlardır. Bidwell ve arkadaşları (10), B. divergens veya B. major'un teşhisinde ELISA ve IFAT arasında iyi bir korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Weiland (109), köpeklerde B.canis ve B. gibsoni ile deneysel enfeksiyonun ELISA ile serodiagnozunda B. rodhaini antijeninin kullanılabilceğini ifade etmiştir. Bu araştırmacı (109) somatik ekstrakt antijeninin testte daha güvenilir olduğunu bildirmektedir. Nierlich (82), Reife atfen B. divergens veya B. rodhaini'nin somatik antijenlerinin kullanılmasıyla deneysel enfeksiyona tabi

tutulan sığırlarda, B. divergens enfeksiyonunun ELISA ile teşhis edildiğini bildirmektedir. Nierlich (82), Young ve Purnell'e atfen, filtre kağıdında kurutulmuş enfekte kan örneklerinin antijen olarak kullanılmasıyla B. divergens enfeksiyonunun ELISA ile teşhisinin mümkün olabildiğini belirtmektedir. Barry ve arkadaşları (7), sığır serumunda A. marginale'ye karşı oluşan antikorların titrasyonu için mikroplyt ELISA kullanmışlar ve B. bovis, A. centrale ve Theileria spp.'ye karşı çapraz reaksiyon şekillenmediğini tespit etmişlerdir. Bidwell ve Turp (10), sığırlarda babesiosis'in serolojik tanısı için ELISA testinin, IFAT ve KFT'ne göre daha kullanışlı bir test olduğunu bildirmişlerdir. ELISA, köpeklerde B. canis enfeksiyonunun teşhisinde de başarıyla kullanmıştır (12, 13, 108). Türkiye'de veteriner protozooloji sahasında ELISA testini ilk kez Düzgün ve ark.(22), sığırlarda A. marginale enfeksiyonunun teşhisinde kullanmışlardır. Düzgün ve ark.(23), ELISA'yı sığırlarda B. bovis, koyunlarda B. ovis enfeksiyonlarının serolojik teşhisinde de uygulamışlardır. ELISA, anti-babesia antikorlarının tespit edilmesinde kullanılan çok elverişli bir teşhis metodudur (69, 82, 109).

Babesiosis'in ELISA ile teşhisinde, yeterli miktarda kullanılabilir antijen elde edilememesinden dolayı problemler çıkmaktadır. O'donoghue ve ark.(83), B. bigemina ile deneysel enfeksiyona tabi tutulan danalarda IgG ve IgM antikorlarının teşhisi için, nisbeten saflaştırılmış antijenleri elde ederek, ELISA testini uygulamışlardır. Testin hassas olması için en uygun antijenin bulunması gerekmektedir. Kachani ve ark. (56), yaptıkları bir araştırmada Th. annulata enfeksiyonunun ELISA ile teşhisinde kullanmak için en uygun antijenin piroplasm antijeni olduğunu, sporozoit ve şizont antijenlerinin ise piroplasm antijenine göre daha az sensitiv olduğunu bildirmektedirler. Babesia antijenleri, enfekte deney hayvanlarından veya in-vitro kültürlerden elde edilebilmektedir.

Parazitin metabolizması ile kan plazmasına veya kültür vasatına salınan çözünebilir ekzoantijenler ve enfekte eritrositlerin antijenleri ayrıştırılabilmektedir (80). Korpuskuler antijenler (babesiaların eritrositer formları ve membrana bağlı metabolitler) ve plazma içindeki metabolitler buna dahildirler. Plazmadan babesia antijenlerinin izolasyonu biraz güç olmaktadır. Çünkü bunlar serum proteinlerine ve gama-globulinlere bağlı durumdadırlar. Ekzoantijenlerin, kültürlerden elde edilmesi daha başarılı olmaktadır. Ancak araştırmaların çoğunda, antijenler deneysel olarak enfekte edilen hayvanların enfektif eritrositlerinden elde edilmektedir (38). Deneysel çalışmalar için enfekte kanın sürekli muhafaza edilmesi gerekmektedir. Dalgliesh (20), B. bigemina'nın düşük ısıda muhafaza edilmesinde Dimethyl sulphoxide (DMSO) kullanılmasını önermektedir. DMSO, enfekte kan içindeki etkenlerin virulansındaki kayıpları en az düzeye indirmektedir. Ayrıca enfekte kanın dondurulup, çözdürülmesi sırasında şekillenen hemoliz oranını da düşürmektedir. Walker'e (107) göre de, protozoonların düşük ısıda muhafazası, en iyi şekilde DMSO veya gliserol gibi maddelerin kullanılması ile sağlanabilmektedir. Bu araştırmacı (107), enfekte kanı likid nitrojende saklamayı tavsiye etmektedir. Gerbiller (*Meriones unguiculatus*) B. divergens'in piroplasm formlarına son derece duyarlı olan hayvanlardır. Bu yüzden splenektomi yapılmış danalar kullanılmaksızın, laboratuvarında kolaylıkla antijen temin edilebilmektedir. Gray ve Kaye (43), sığırlarda babesiosisin teşhisi için gerbillerde hazırlanmış B. divergens antijenini kullanmışlardır. Bu araştırmada (43), sığır ve gerbil eritrositlerinden hazırlanan B. divergens antijeni, IFAT ve ELISA ile sığır babesiosisinin teşhisinde kullanılmış ve her iki test de pozitif örneklerin tespitinde eşit etkili bulunmuştur. Ancak, küçük çaplı deneyler için IFAT'ın, büyük araştırmalar için ELISA'nın daha elverişli olduğu belirtilmektedir (43).

Teorik olarak, ELISA testinde, antijen ve antikordan birisi bir taşıyıcıya (solid faz) bağlanmakta ve enzim işaretli antikor veya antijenin kullanılması ile antijen-antikor reaksiyonu kalitatif ve kantitatif olarak ölçülmektedir. Testi tatbik etmek için çeşitli metodlar vardır. Hangi reaksiyon ortağının (antijen veya antikor) enzimle işaretlenerek belirgin hale getirileceğine göre test, direkt ve indirekt ELISA olmak üzere iki kısımda sınıflandırılmaktadır. Direkt (Sandwich) ELISA'da antijen tayini, indirekt ELISA'da ise spesifik antikor tayini yapılmaktadır (82).

İndirekt ELISA testinde, sabit faz olarak günümüzde genellikle polystyrenden yapılmış, 96 kuyucuklu mikrotiter pleytler kullanılmaktadır. Polystyren, antijen taşıma özelliği olan bir maddedir. Antijen taşıyıcısı olarak kullanılan diğer materyallerin (selüloz, polyacrylamide, silikon, mikrokristalline şişeler v.s.) yıkama basamakları sırasında dezavantajları vardır (16). Mikropleytlere ilave edilen reagentlerin hacmi 50 µl'den başlamakta 100, 150, 200, 250, 300 µl'ye kadar çıkabilmektedir. Tüp ve küvet sistemlerinde ise hacim genellikle 1 ml'dir (16). Mikropleytlerde çözünebilir özellikteki antijenler kovalent olarak bağlanmazlar. Plastik yüzey ile antijen molekülleri arasındaki etkileşme fiziksel bağlardan dolayı meydana gelmektedir (hidrojen bağları). Bu bağların oluşması ve kırılması kolaydır. Böylelikle sürekli bir denge sağlanmış olmaktadır. Ayrıca, fiziksel bağların fazlalığından dolayı iyi bir immobilizasyon meydana gelmektedir. Immobilizasyonu sağlamada en önemli faktörler; ısı, zaman, pH değeri ve antijen konsantrasyonudur (16, 25, 82).

Antijenin sabit faza bağlanmasından sonraki aşamalarda, antikorların ve enzim konjugatının mikropleyttteki serbest plastik yüzeylere direkt olarak bağlanmasıyla, yanlış pozitif sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. Bu durum, diğer test reagentleriyle interfere olmayan protein moleküllerinin (Örneğin; albumin

veya jelatin) mikropleyte bloklanması suretiyle azaltılabilmektedir (16, 82). Test edilecek olan serumlar ya titre edilerek ya da sulandırılarak kullanılmaktadır (16, 82).

ELISA testinde antijene bağı antikorları enzimle işaretlemek için, çeşitli şartlar öne sürülmektedir. Buna göre, kullanılan enzim yüksek bir etki gücüne sahip olmalı, yüksek derecede saf olmalı, stabil ve ucuz olmalı ve kolay tespit edilebilmelidir. Serumda bu enzimden başka endojen enzim bulunmamalıdır. ELISA testinde en çok kullanılan enzimler; Alkalin fosfataz (AP), Horse Radish Peroxidaz (HRP), β -Galaktosidaz, Karbonik anhidraz, Glukoz oksidaz, Glukoamilaz, Asetil kolin esteraz ve üreaz'dır. Bu enzimlerin ELISA'da kullanılabilmesi için kovalent bağlarla antikorlara (türe spesifik antikorlar) bağlanmaları gerekir (16, 82).

Substrat çözeltisinin ilavesi ile, enzimin substratı katalize etmesi sonucu renkli bir son ürün oluşmaktadır. Uygun substratın seçimi, kullanılan enzime bağlıdır. Peroksidaz enzimi için, hidrojen peroksit ile karıştırılarak kullanılan çeşitli substratlar vardır. Ancak substratların kanserojen etkilerinin bulunabileceğinden şüphelenilmektedir (16, 82).

Testte kullanılan reagentlerin konsantrasyonu yanında, her yeni ELISA testi için uygun inkubasyon süresi, ısı, pH değeri ve seyreltme için kullanılan tampon maddenin terki binin belirlenmesi gerekmektedir. İnkubasyon sürelerinin kısaltılması, testin hassasiyetini azaltabilmektedir. Antijenlerin sabit faza bağlanabilmesi için, genellikle 0,05 M ve alkali pH'ya (9,6) sahip karbonat veya bikarbonat buffer tavsiye edilmektedir. Blokaja rağmen meydana gelen spesifik olmayan bağlanmaları azaltmak için sulandırma bufferına deterjan veya blok proteinleri ilave edilebilmektedir. Substrat çözeltisinin terki bi, ısısı ve pH değeri, kullanılacak olan enzimin ve substratın optimum etkisine bağı olmalıdır (82).

ELISA testinde sonuçların değerlendirilmesi, mevcut laboratuvar donanımına bağlıdır. Eğer ELISA okuma aracı yoksa, testin pozitif ve negatif reaksiyonları gözle de ayırt edilebilmektedir. Bundan dolayı, koyu kahverengi renk veren peroksidaz ve 5-aminosalisilik asitin kullanımı daha uygundur. Bundan başka, reaksiyon fotometrik olarak da belirlenebilmektedir. Reaksiyon, pozitif ve negatif standardın absorpsiyon değerine göre okunmalıdır. Absorpsiyon değerleri içinde sonuçların gösterilmesi basittir ve en çok kullanılan metoddur. Sonuçlar kalitatifdir. Derecelendirme, bir sınır değer vasıtasıyla olmaktadır. Bu sınırın üstü, reaksiyon için pozitifdir (16, 82, 91).

Adsorpsiyon için bekleme süreleri farklı olabilmektedir. Bu süre +4 °C'de, oda ısısında ve 37°C'de bir gece'dir. Fakat, 37 °C'de inkubasyonda, çalkalayıcı kullanılmasına ve rotasyon hareketi yaptırılmasına göre değişmek üzere bekleme süreleri 3 saate veya 30 dakikaya düşürülebilmektedir. 37 °C'de inkubasyonda genellikle çalkalama ve rotasyon hareketi yapılmakta ve 30 dakika inkübe edilmektedir (16).

Katı zemine antijenin bağlanma özelliğini artırmak için bazı maddeler kullanılabilir. Antijen ilavesinden önce plastik yüzey poly-l-lysine ile kaplanarak antijenin yüzeye bağlanması aktif hale getirilebilmektedir. Bu durum için %2,5 oranında fetal sığır serumu kullanılmakta, bu serum havada kurutulduktan sonra gluteraldehit ile fikse edilmektedir. %1 oranında sığır serum albumini kullanıldığı zaman fikzasyon olmaksızın mikroplyet havada kurutulur ve antijen damlatılarak tekrar havada kurumaya bırakılır. Antijenin bağlanma hassasiyetini artıran diğer bir metod da, direkt ELISA'da olduğu gibi antijen konulmadan önce kuyucukların antijene özel antikorlarla kaplanmasıdır (16).

Mikroplyetler bir kez kaplandığı zaman ya hemen kullanılmalı veya kullanılıncaya kadar -20 °C'de bekletilmelidir. Kuru pleytler su geçirmeyen bir

konteynır içinde +4 °C'de 1 yılın üzerinde saklandığında aktivitesinde hiç bir kayıp olmamaktadır (16).

ELISA test basamakları boyunca yıkama işlemi bir çok yollarla yapılmaktadır. Önemli olan katı zemine bağlanmayan artık maddelerin yıkama işlemi ile uzaklaştırılmasıdır. Hastane veya büyük amaçlı kuruluşlarda bu işlem otomatik yıkama aletleri ile yapılmaktadır. Bunun dışında elle kullanılan küçük yıkama aletleri de kullanılmaktadır. Yıkamada kullanılan sıvılar ise araştırmanın amacına göre değişmektedir. Bu sıvılar distile su, deiyonize su, tuzlu su, PBS, 0,2 M Tris buffer olabilmektedir. Bunların çoğuna genellikle % 0,005 yoğunlukta Tween 20 veya Tween 80 katılmaktadır. Daha sonraki reagentlerin plastik yüzeye spesifik olmayan bağlanmalarından kaçınmak için küçük bir miktar protein katılabilmektedir. Bu proteinler sığır albumini, yumurta albumini veya % 0,1'lik kanatlı hayvan plazması olabilmektedir (16, 82).

Serumlar iki şekilde hazırlanabilmektedir. Birincisinde, serumların seri sulandırılmaları yapılmaktadır. İkincisinde ise, önceden seri sulandırılmaları yapıp, uygun sulandırma oranı tespit edilmekte ve örnekler standart değer ile mukayese edilmektedir.

İndirekt ELISA tekniğinde antijen-antikor ve antikor- enzim işaretli antiglobulin reaksiyonları için bekleme süreleri ısıya göre değişmektedir.

Isıdaki değişiklikler ve ELISA inkubasyonunun süreleri aşağıda gösterilmiştir.

Isı	Antijen-Antikor reaksiyon süresi	Antikor-Konjugat reaksiyon süresi	Enzim-Substrat reaksiyon süresi
Oda ısısı	2 saat	3 saat	30-60 dakika
37 °C	1 saat	1 saat	1 saat
Oda ısısı	6 saat	bir gece	30-60 dakika
Oda ısısı	4 saat	bir gece	1 saat
37 °C	1.5 saat	1.5 saat	30 dakika
37 °C	30 dakika	30 dakika	1 saat

Mikropleytlar 37 °C'de çalkalayıcıda tutulurlarsa reaksiyon zamanı azaltılabilmekte, ancak sensitivitede bir düşme görülmektedir. Yüksek ısı reaksiyonun süresini azaltmaktadır. Fakat o zaman pleytların kenarlarındaki lokal buharlaşmayı önlemek için 37°C'de nemli bir oda kullanılmalıdır. Antijen-antikor reaksiyonu için 2 saat, konjugat inkubasyonu için 3 saatlik bir süre kullanıldığında test oda ısısında yapılabilir. Yeterli bir renk reaksiyonunun oluşması için +4 °C'de bir gece inkubasyona tabi tutulmalıdır. Zaman ve ısı ayarında değişiklikler yapıldığında benzer renk daha kısa sürede aktif hale getirilebilmektedir. Ancak reagentlerin konsantrasyonunu ve dilüsyon oranlarını iyi ayarlamak gerekmektedir. Dilüsyon oranı fazla olan reagentlerin reaksiyon zamanları uzun olmaktadır (16).

ELISA Testinin Prensibi:

Antijen sabit faza (solid faz) bağlanmakta, daha sonra spesifik immunoglobulin (antikor) ihtiva eden serum ile inkube edilmektedir. Bunu müteakip enzim işaretli antiglobulin (konjugat) bağlanmaktadır. Ardından enzim tarafından değişikliğe uğrayabilen kromojen substrat'ın ilavesi ile, reaksiyon fotometrik olarak okunabilmekte ve spesifik olarak bağlanan

immunoglobulinlerin konsantrasyonu belirgin hale getirilebilmektedir (16, 82).

4.10. Babesiosisin Tedavisi :

Babesialara etkili olan ilaçların çoğu kolinesteraz inhibitörüdürler. Babesialar, eritrositlerin zorunlu parazitidirler ve yüksek konsantrasyonda kolinesteraz ihtiva ederler. Etkenlerin canlılığını devam ettirebilmeleri için, etraflarında mutlaka bu enzimin bulunması gerekmektedir.

Babesiosisin tedavisinde göz önünde tutulması gereken iki nokta vardır. Birincisi, babesia türüne karşı ilacın etkinliği; diğeri ise, konakçı için ilacın toksisitesidir. Babesiaya karşı kullanılan bütün ilaçlar az veya çok tok siktirler. Bu sebeple, konakçıda kullanılan bir ilaç için dozajın terapötik ve toksik düzeyleri arasındaki ilişki iyi bilinmelidir (64, 69, 95).

Babesiosis'in tedavisi için günümüzde kullanılan ilaçlar dört grupta toplanmaktadır.

1.Quinuronium türevleri (Acaprin, Babesan, Piveran, Piroparv, Piropasmin):

Bu gruptaki ilaçlar bütün babesialara karşı etkili olmakla birlikte enfeksiyonu tamamen ortadan kaldıramamaktadırlar. Dozajın terapötik ve toksik düzeyi arasındaki sınır küçüktür ve tedavi hastalığın ciddiyetine bağlıdır. Bu ilacın tavsiye edilen dozu 1ml/50 kg, maksimum doz ise 6 ml'dir (11, 50, 69).

Acaprin'in %0,5'lik solüsyonu 2 ml/10 kg dozda deri altı yolla uygulanmaktadır. Acaprin ampul (%5'lik) ise, koyun ve keçiler için 10 katı sulandırıldıktan sonra deri altına enjekte edilmektedir. Bu şekilde hazırlanan %0.5'lik çözeltiden koyun ve keçilere 0.2 ml /kg dozda verilmektedir. Babesiose

tedavisinde acaprin uygulamasından önce hayvana deri altı yolla kafein veya atropin sülfat verilmelidir (50).

2.Aromatik Diamidinler (Diminazen aceturate):

Diminazen aceturate (Babenil, Berenil) babesiosisin tedavisinde kullanılan en etkili ilaçlardan birisidir (11, 50). Bulgaristan'da ortaya çıkan sığır ve koyun babesiosisunun tedavisinde diminazen aceturate (Berenil) ile etkili bir tedavi sağlanmıştır (76). Sudan'ın batısında ortaya çıkan bir babesiosis vakasında da diminazen aceturate kullanılarak hayvanlar tedavi edilmişlerdir. Berenil toz, 14 katı sulandırıldıktan sonra kas içi veya deri altı yolla 3.5 mg/kg dozda kullanılmaktadır (78).

3.İmidocarb (İmizol):

Sığır babesiosisinde kullanılan etkili bir ilaçtır. 1 mg/kg dozunda kullanılmaktadır. 2 mg/kg dozda kullanıldığında kandaki bütün babesialar elemine edilmektedir (11, 12, 50, 69).

Hashemi-Fesharki (48), İran'daki koyun ve keçilerin babesiosisinin tedavisinde imidocarb'ın 1,2 mg/kg dozda kullanıldığında, etkili bir ilaç olduğunu ve ilaçlı hayvanların etlerinin tedavi sonrası 28 gün tüketilmemesi gerektiğini belirtmektedir. 1,2 mg/kg dozda intramuskuler yolla kullanılan imidocarb dipropionatın B. ovis'e karşı çok etkili olduğu, 9,9 mg/kg dozda ise, toksik reaksiyonların ortaya çıktığı bildirilmiştir (74).

4. Acridin türevleri (Gonacrin, Acriflavin, Flavin, Euflavin, Tripaflavin):

Tripaflavin ve Acriflavin'in %0.5- 2.5'lük çözeltileri koyun ve keçilerde 50-150 mg dozda damar içi yolla kullanılmaktadır (50, 69).

4.11. Babesiosisden Korunma:

Babesiyozdan korunmak için hasta hayvanların teşhis ve tedavileri yapılmalı, sağlam hayvanlar aşılanmalı ve kene sezonu boyunca belirli aralıklarla akarısit bir ilaçla ilaçlanmalıdır.

İmmunoproflaksi için, canlı veya ölü aşilarla hayvanlar aşılanabilmektedirler. Bu aşilar fiziksel ve kimyasal olarak inaktif hale getirilmişlerdir. Formalin ile hazırlanmış ölü aşilar etkin ve steril bir immunité sağlamaktadırlar (73).

Babesiosisden korunmak için hayvanlar kenelere karşı da bağışık hale getirilebilmektedir. Johnston ve ark.(55), yaptıkları bir araştırmada, olgun dişi kenelerden çıkarılan ekstraktları kullanarak, sığırları B. microplus'a karşı aşılamışlar ve kene populasyonları üzerine bağışıklığın etkisini araştırmışlardır. Bu araştırmaya göre (55), olgun dişi kenelerden çıkarılan ekstraktların sığırlara enjeksiyonu ile B. microplus'a karşı kısmi bir bağışıklığın şekillendiği bildirilmiştir. Oluşan bağışıklık aşılı hayvanlara günlük 1000 adet larva yapıştırılması ile daha belirgin hale gelmiş ve aşılı hayvan üzerindeki kene populasyonu %70 oranında azalmıştır. Aynı işlem 20.000 larva ile iki kez yapıldığında ise, aşılı grup üzerindeki kene populasyonu aşısız gruptaki hayvanlardakine göre, %90 oranında daha az olmuştur (55).

5. MATERYAL VE METOT

Çalışma merkezlerinin seçimi ve Test serumlarının elde edilmesi

Bu araştırma Mayıs 1994- Nisan 1995 tarihleri arasında yapılmıştır. Bu süre içerisinde Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Sarayönü ilçelerine 12 ay boyunca her ay gidilerek, her defasında farklı yaş gruplarına ait 15'er (Sarayönü'nden Mayıs ayında 16, Haziran ayında 17), toplam 60'ar adet koyundan sürme frotiler hazırlanmıştır. Ayrıca serum çıkarmak için her birinin Vena jugularis'lerinden yaklaşık 10'ar cc kan alınmıştır. İncelemeye tabi tutulan bütün koyunlar kene yönünden de muayene edilerek mevcut keneler toplanmış ve identifiye edilmişlerdir. Testte işlenecek serumlar ise Çumra, Beyşehir, Sarayönü ve Konya merkez olmak üzere dört merkezden temin edilmiştir. Bu araştırma için, bir yıl boyunca, toplam 723 adet test serumu toplanmıştır. Bunların 23 tanesi hemoliz olduğu için incelenememiştir.

Antijen

Testte kullanılan antijen, Lalahan Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü, Parazitoloji Laboratuvarında üretilmiştir.

Kaba antijen yapımı

B. ovis enfeksiyonu geçirmemiş bir koyuna splenektomi yapılmış ve bu hayvan 10 gün sonra B. ovis ile enfekte kan ile deneysel olarak enfekte edilmiştir. Daha

sonra her gün sabah-akşam sürme kan frotisi yöntemi ile parazitemi oranı takip edilmiştir. Kandaki parazitemi oranı %15'e ulaştığında hayvandan 1000 ml kan alınmıştır. Bu enfekte kan %0.525 oranındaki tuzlu su solüsyonu ile yıkanmıştır. Ardından üç kez PBS (Phosphate Buffered Saline pH 7.3) ile oda sıcaklığında 3000 devirde, 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Daha sonra elde edilen kan ekstraktının 4 katı kadar distile su ilave edilerek, karışım +4 °C'de 1000 devirde 30 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Böylece enfekte eritrositler eritilerek, parazitlerin açığa çıkması sağlanmıştır. Bu parazitler kaba antijen olarak ELISA testinde kullanılmıştır.

Konjugat

Bu araştırmada aşağıdaki konjugat kullanılmıştır.

A goat anti-bovine H+L chain IgG-Horse Radish Peroxidase conjugated, Kirkegaard and Perry Lab.

Pozitif ve negatif Serum

Negatif koyun serumları, Avustralya'dan getirilmişlerdir. Bu kıtadaki koyunlarda B. ovis enfeksiyonu görülmemektedir. Pozitif serumların bir kısmı, Çankırı ili çevresinden, daha önce B. ovis enfeksiyonunu geçirmiş koyunlardan elde edilirken, bir kısmı da Almanya, Hannover Üniversitesi'nden sağlanmıştır.

ELISA Testinin Uygulanması:

Bu çalışmada flat-bottomed microelisa plakları (Dynatech M 129 B Dendark, West Germany) kullanılmıştır.

Antijen, Sodyum Karbonat tamponu (pH 9.6) ile 1/500 oranında (30 cc karbonat buffer + 60µl antijen) sulandırıldıktan sonra, mikroelisa plağının

kuyucukları içine 200 µl olarak doldurulmuştur. Plaklar +4 °C'de 12 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra, içindeki solüsyon dökülerek, %0.5 oranında gelatin-karbonat tamponundan plağın her bir gözüne 250 µl damlatılıp, 37 °C'de 2 saat inkübasyona bırakılarak, bloklanmıştır. Plak inkubatörden çıkardıktan sonra 3 kez PBS Tween 20, 2 kez de PBS tamponu ile yıkanmıştır. İkinci safhada, plağın her bir gözüne daha önce 1/500 oranında PBS Tween 20 ile sulandırılmış (5 ml PBS + 10 µl serum) 200 µl serum konulmuş ve 37 °C'de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ardından yıkama işlemi tekrarlanmıştır (3 kez PBS Tween 20 ile, 2 kez PBS tamponu ile). Üçüncü safhada konjugat , PBS tamponu içinde 1/1000 oranında sulandırılarak, plağın her bir gözüne 200 µl olacak şekilde ilave edilmiştir. 37 °C'de 1 saat inkübasyondan sonra plaklar tekrar 3 kez PBS Tween 20, 2 kez de PBS tamponu ile yıkanmıştır. Son safhada plağın her bir gözüne daha önceki işlemlerdeki gibi 200 µl hacimde substrat solüsyonu (5-Aminosalisilik asit) konulmuştur. Plak, 30 dakika "çalkalayıcı (shaker) " üzerinde bırakılmış ve sonuçlar 492 nm. filtrede, Titertek Multiskon Spektrofotometrede okunmuştur.

Sonuçların değerlendirilmesi

Test edilen negatif kontrol serumların absorbans değerlerinin standart sapması 2 ile çarpılıp, aritmetik ortalaması ile toplanarak "pozitiflik sınırı" tespit edilmiştir. Bu değer üstündeki değerler pozitif olarak kabul edilmiştir.

Froti

Babesiose yönünden kontrol edilen koyunlardan toplam 723 adet sürme froti hazırlanmıştır. Sürme kan frotileri 5 dakika süreyle metil alkol ile tespit edilip, ardından 40 dakika süreyle de Giemsa ile boyanmıştır. Boyamadan

çıkarılan preparatlar çeşme suyunda yıkanıp, kurutulduktan sonra, üzerlerine sedir yağı damlatılarak, 100X objektifte mikroskopik olarak muayene edilmiştir.

Hematokrit

Babesiose yönünden kontrol edilen koyunların her birinden hematokrit tüplerine kan çekilerek santrifüj edilmiş ve hematokrit değerleri ölçülmüştür.

Kenelerin Toplanması

Kontrol edilen koyunların hepsi kene yönünden muayene edilmişlerdir. Toplanan keneler içinde %70'lik alkol bulunan ayrı ayrı şişelere konmuştur. Bu şişelerin her birinin üzerine protokol numarası, koyunun yaşı, cinsiyeti ve hangi bölgeden alındığı not edilmiştir.

ELISA TESTİNDE KULLANILAN TAMPON MADDELER

Substrat Buffer:

100 ml distile su + 0.3722 gr EDTA	5 ml
500 ml distile su + 0.8897 gr Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	250 ml
500 ml distile su + 0.7800 gr NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	275 ml
(Bu üç madde karıştırılır, pH:6'ya ayarlanır.)	

Karbonat Buffer (pH : 9.6):

Na ₂ CO ₃ .H ₂ O	1,984 gr.
NaHCO ₃	2,856 gr.
Distile su	1000 ml.

PBS Tween 20 % 0,025:

Oxoid	1 tablet
Distile su	100 ml

Tween 20 25 µl

PBS Tween 20 % 0,05:

Oxoid 5 tablet
Distile su 500 ml
Tween 20 250 µl

Gelatin Buffer:

Gelatin 350 mg
Karbonat buffer 70 ml
(Karışım 56°C'de 15 dakika eritilir.)

Konjugat Sulandırma:

PBS..... 25 cc
Konjugat 25 µl

Substrat Sulandırma:

Substrat 25 mg
Substrat buffer 25 ml
%30'luk H₂O₂ 37,5 µl
(Karışım 37°C'de 15 dakika eritilir,kullanılırken H₂O₂ katılır.)

Substrat Hazırlanması:

5-Aminosalisilik asit 9 gr
Na₂S₂O₅..... 9 gr
Carcol 4 gr

PBS pH: 7,2:

NaH₂PO₄.H₂O 1,265 gr
Na₂HPO₄.12H₂O 12,10 gr
NaCl 8,50 gr
Distile su 1000 ml

6. BULGULAR

Koyunlarda *B. ovis* enfeksiyonlarının 4 farklı merkezdeki dağılımı

Mikroskopik bulgulara göre, koyunlarda *B. ovis* enfeksiyonunun Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Sarayönü ilçelerinde aylara göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Mikroskopik bulgulara göre koyunlarda *Babesia ovis* enfeksiyonunun 4 farklı merkezde aylara göre dağılımı

Aylar	Beyşehir			Çumra			Konya Merkez			Sarayönü			Toplam		
	a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)
Ocak	15	0	0	15	0	0	15	0	0	15	0	0	60	0	0
Şubat	15	0	0	15	0	0	15	0	0	15	0	0	60	0	0
Mart	15	0	0	15	2	13,3	15	0	0	15	3	20	60	5	8,3
Nisan	15	1	6,6	15	5	33,3	15	1	6,6	15	0	0	60	7	11,6
Mayıs	15	2	13,3	15	5	33,3	15	3	20	16	2	13,3	61	12	19,6
Haziran	15	4	26,6	15	4	26,6	15	2	13,3	17	2	11,7	62	12	19,3
Temmuz	15	2	13,3	15	10	66,6	15	2	13,3	15	4	26,6	60	18	30
Ağustos	15	3	20	15	2	13,3	15	4	26,6	15	1	6,6	60	10	16,6
Eylül	15	3	20	15	4	26,6	15	4	26,6	15	0	0	60	11	18,3
Ekim	15	3	20	15	1	6,6	15	1	6,6	15	0	0	60	5	8,1
Kasım	15	1	6,6	15	0	0	15	0	0	15	2	13,3	60	3	5
Aralık	15	0	0	15	0	0	15	0	0	15	0	0	60	0	0
Toplam	180	19	10,55	180	33	18,33	180	17	9,44	183	14	7,65	723	83	11,47

a: Muayene edilen hayvan sayısı

b: Enfekte hayvan sayısı

c: enfeksiyon oranı

Buna göre, Beyşehir'de mikroskopik olarak muayene edilen koyunlarda *B. ovis*'e en çok Haziran ayında (%26,6) rastlanmış olup, bunu Ağustos (%20), Eylül (%20) ve Ekim (%20) ayları takip etmiştir. Aralık, Ocak, Şubat ve Mart aylarında ise *B. ovis*'e hiç rastlanmamıştır. Çumra'da mikroskopik olarak muayene edilen koyunlarda *B. ovis*'e en çok Temmuz ayında (%66,6)

rastlanmış olup, bunu sırasıyla Nisan (%33,3)ve Mayıs (%33,3) ile Haziran ve Eylül (%26,6) ayları izlemiştir. Kasım, Aralık, Ocak ve Şubat aylarında ise B. ovis'e hiç rastlanmamıştır. Konya Merkez'de mikroskopik olarak muayene edilen koyunlarda B. ovis'e en çok Ağustos (%26,6) ve Eylül (%26,6) aylarında rastlanmış olup, bunu sırasıyla Mayıs (%20), Haziran (%13,3) ve Temmuz (%13,3) ayları takip etmiştir. Kasım, Aralık, Ocak, Şubat ve Mart aylarında ise B. ovis'e hiç rastlanmamıştır. Sarayönü'nde mikroskopik olarak muayene edilen koyunlarda B. ovis'e en çok Temmuz ayında (%26,6) rastlanmış olup, bunu sırasıyla Mart (%20), Mayıs (%13,3), Kasım (%13,3) ve Haziran (%11,7) ayları izlemiştir. Aralık, Ocak, Şubat, Nisan, Eylül ve Ekim aylarında ise B. ovis'e hiç rastlanmamıştır. Araştırma süresince incelenen toplam 723 kan frotisinin 83'ünde (%11,47) mikroskopik olarak B. ovis tespit edilmiştir. Konya Merkez ilçede muayene edilen 180 koyunun 17'sinde (%9,44), Çumra'da muayene edilen 180 koyunun 33'ünde (%18,33), Beyşehir'de muayene edilen 180 koyunun 19'unda (%10,55) Sarayönü'nde muayene edilen 183 koyunun 14'ünde (%7,65) B. ovis'e rastlanmıştır (Resim 1,2 ve 3.).

Tablo 1'den de anlaşılacağı gibi genel dağılıma göre B. ovis Temmuz ayında en yüksek düzeyde (%30) gözlenirken, bunu sırasıyla Mayıs (%19,6), Haziran (%19,3), Eylül (%18,3), Ağustos (%16,6), Nisan (%11,6), Mart (%8,3), Ekim (%8,1) ve Kasım (%5) ayları takip etmiştir. Bununla birlikte Aralık, Ocak ve Şubat aylarında muayene edilen koyunların hiç birisinde B. ovis tespit edilememiştir.

Serolojik bulgulara göre, koyunlarda B. ovis enfeksiyonunun Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Sarayönü ilçelerinde aylara göre dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Serolojik bulgulara göre koyunlarda Babesia ovis enfeksiyonunun 4 farklı merkezde aylara göre dağılımı

Aylar	Beyşehir			Çumra			Konya Merkez			Sarayönü			Toplam		
	a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)
Ocak	15	3	20	15	0	0	15	3	20	15	6	40	60	12	20
Şubat	15	5	33,3	15	4	26,6	15	3	20	15	2	13,3	60	14	23,3
Mart	15	12	80	15	4	26,6	15	2	13,3	15	3	20	60	21	35
Nisan	15	15	100	15	11	73,3	15	4	26,6	10	6	60	55	36	65,4
Mayıs	15	10	66,6	15	6	40	15	13	86,6	16	12	75	61	41	67,2
Haziran	15	6	40	15	12	80	11	7	63,6	17	15	88,2	58	40	68
Temmuz	10	9	90	15	12	80	10	10	100	15	10	66,6	50	41	82
Ağustos	15	5	33,3	11	3	27,3	15	9	60	16	4	25	57	21	36,8
Eylül	15	7	46,6	15	5	33,3	15	6	40	14	2	14,3	59	20	33,8
Ekim	15	3	20	15	2	13,3	15	2	13,3	15	8	53,3	60	15	25
Kasım	15	4	26,6	15	4	26,6	15	7	46,6	15	5	33,3	60	20	33,2
Aralık	15	4	26,6	15	1	6,6	15	2	13,3	15	4	26,6	60	11	18,3
Toplam	175	83	47,42	180	64	33,36	171	68	39,76	178	77	43,25	700	292	41,71

a: Muayene edilen hayvan sayısı

b: Enfekte hayvan sayısı

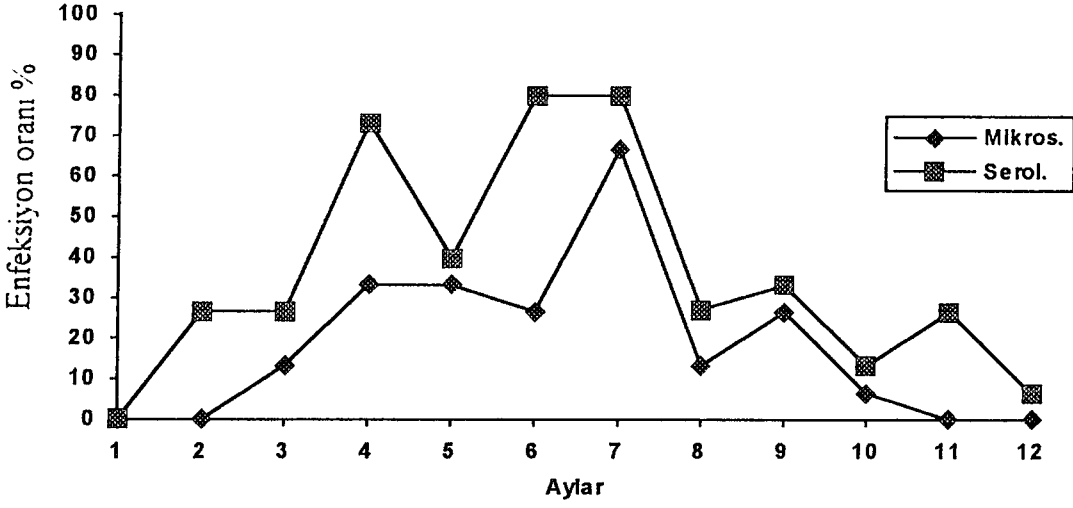
c: enfeksiyon oranı

Beyşehir'de Nisan ayında serolojik olarak muayene edilen koyunların tamamında (%100) B. ovis' antikorlarına rastlanmıştır. Bunu sırasıyla Temmuz (%90), Mart (%80), Mayıs (%66,6) ve Eylül (%46,6) ayları izlemiştir. Diğer taraftan Kasım (%26,6) Aralık (%26,6) ve Ocak (%20) aylarında B. ov.s antikorlarına daha az rastlanmıştır. Çumra'da serolojik olarak muayene edilen koyunlarda B. ovis antikorlarına en çok Haziran ve Temmuz (%80) aylarında rastlanmış olup, bunu sırasıyla Nisan (%73,3), Mayıs (%40) ve Eylül (%33,3) ayları takip etmiştir. Ekim (%13,3) ve Aralık (%6,6) aylarında koyunların çok azında B. ovis antikorları tespit edilmiştir. Ocak ayında ise B. ovis antikorlarına hiç rastlanmamıştır. Konya Merkez'de serolojik olarak muayene edilen

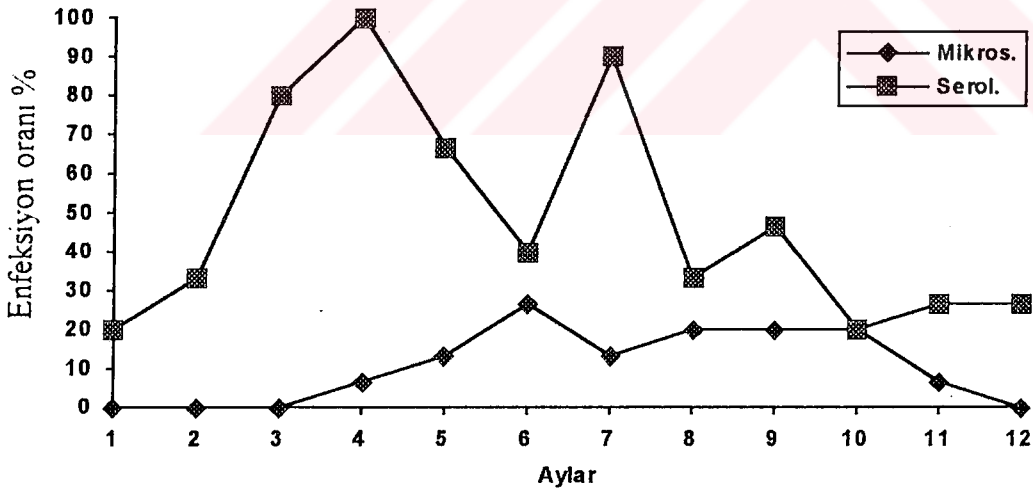
koyunlarda B. ovis antikorlarına en çok Temmuz ayında (%100) rastlanmış olup, bunu sırasıyla Mayıs (%86,6), Haziran (%63,6) ve Ağustos (%60) ayları izlemiş, Ocak (%20), Şubat (%20) Mart (%13,3), Ekim (%13,3) ve Aralık (%13,3) aylarında ise daha az koyunda B. ovis antikorları saptanmıştır. Sarayönü'nde serolojik olarak muayene edilen koyunlarda B. ovis antikorlarına en çok Haziran ayında (%88,2) rastlanmış olup, bunu sırasıyla Mayıs (%75), Temmuz (%66,6) ve Nisan (%60) ayları takip etmiştir. Mart (%20), Şubat (%13,3) ve Eylül (%13,3) aylarında daha az koyunda B. ovis antikorları tespit edilmiştir. Serolojik muayene sonuçlarına göre incelenen toplam 700 kan serumunun 292'sinde (% 41,71) B.ovis antikorları tespit edilmiştir. Konya Merkez ilçede muayene edilen 171 koyunun 68'inde (%39,76), Çumra'da muayene edilen 176 koyunun 64'ünde (%33,36), Beyşehir'de muayene edilen 175 koyunun 83'ünde (%47,42) ve Sarayönü'nde muayene edilen 178 koyunun 77'sinde (%43,25) B. ovis'e karşı antikör tespit edilmiştir.

Tablo 2'den de anlaşılacağı gibi, B. ovis antikorlarına en çok Temmuz (%82), en az ise Aralık (%18.3), Ocak (%20), Şubat (%23.3) ve Ekim (%25) aylarında rastlanmıştır.

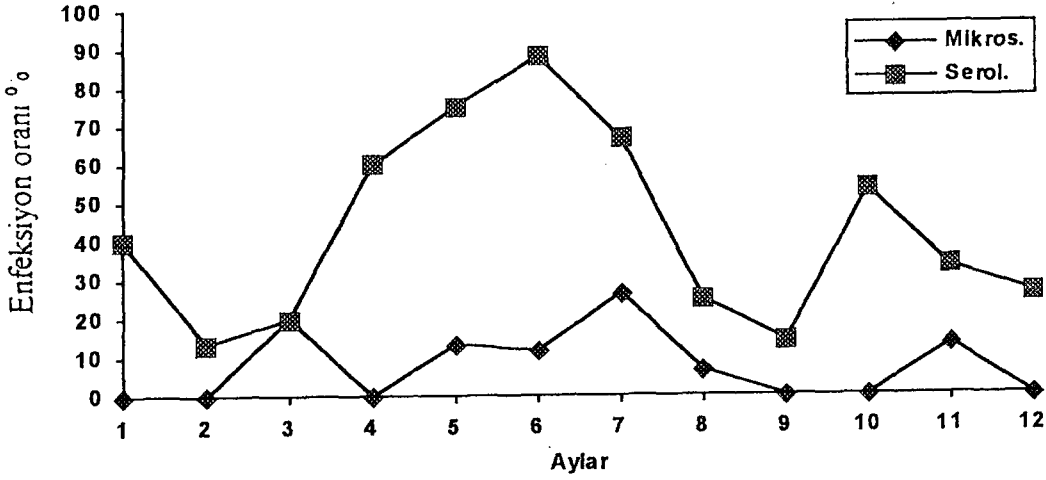
Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Sarayönü ilçelerindeki koyunlarda B. ovis enfeksiyonunun aylara göre dağılımları Grafik 1, 2, 3 ve 4'de gösterilmiştir. Konya yöresinde B. ovis enfeksiyonunun, serolojik ve mikroskopik muayeneler sonucu genel dağılımı ise Grafik 5'de gösterilmiştir.



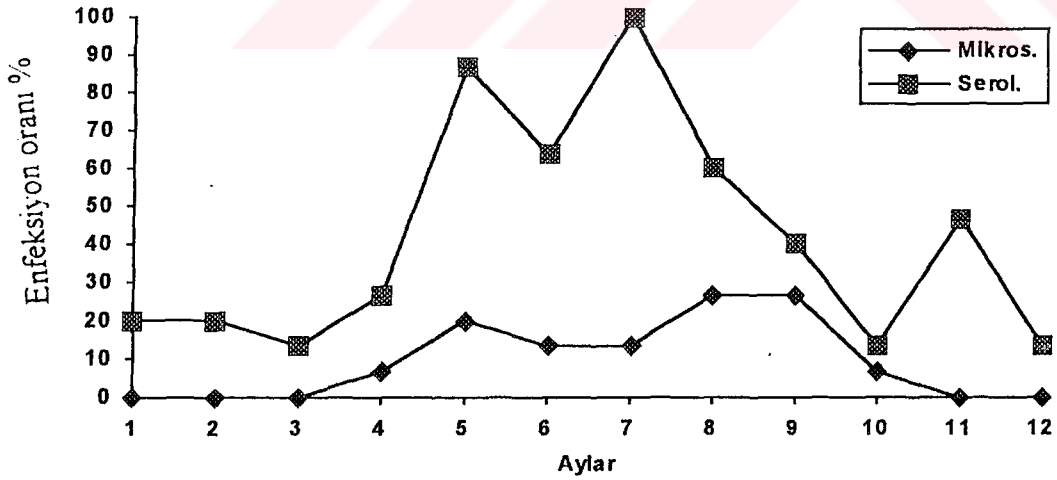
Grafik 1. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Çumra ilçesindeki koyunlarda Babesia ovis enfeksiyonunun aylara göre dağılımı.



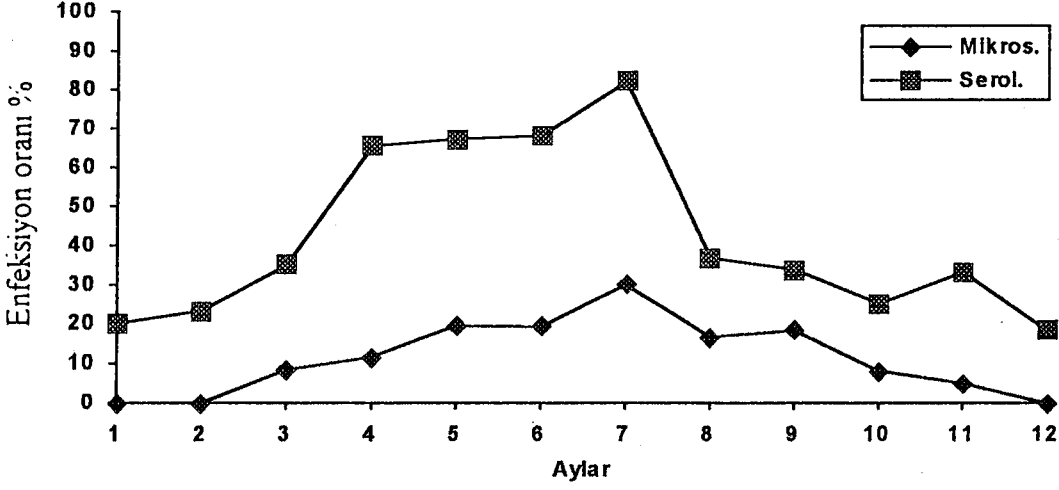
Grafik 2. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Beyşehir ilçesindeki koyunlarda Babesia ovis enfeksiyonunun aylara göre dağılımı.



Grafik 3. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Sarayönü ilçesindeki koyunlarda *Babesia ovis* enfeksiyonunun aylara göre dağılımı.



Grafik 4. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Konya merkezdeki koyunlarda *Babesia ovis* enfeksiyonunun aylara göre dağılımı.



Grafik 5. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Konya yöresi koyunlarında Babesia ovis enfeksiyonunun aylara göre genel dağılımı.

Grafik 5'deki genel dağılıma göre, Konya yöresi koyunlarında B. ovis enfeksiyonu serolojik bulgulara göre Nisan ve Temmuz ayları arasında yüksek seviyede gözlenmiş olup, en yüksek enfeksiyon Temmuz ayında tespit edilmiştir. Mikroskopik bulgulara göre ise B. ovis enfeksiyonu Mayıs ve Eylül ayları arasında yüksek oranda gözlenmiş olup, en fazla enfeksiyon Temmuz ayında tespit edilmiştir.

Koyunlarda B. ovis enfeksiyonunun yaş gruplarına göre dağılımları

Araştırma süresince muayene edilen koyunların serolojik ve mikroskopik bulgularla elde edilen verilerinin, yaş gruplarına göre dağılımları Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 3. Koyunlarda Babesia ovis enfeksiyonlarının yaş gruplarına göre dağılımı.

Yaş Grubu	Serolojik kontrol			Mikroskopik kontrol			χ^2
	a	b	c(%)	a	b	c(%)	
6-12 ay	149	33	22,14 y	152	7	4,6 y	20,46**
1-2 yaş	176	95	53,9 x	176	36	20,45 x	39,35**
2-3 yaş	152	68	44,7 x	152	24	15,8 x	30,3**
3-4 yaş	129	58	44,9 x	135	8	5,9 y	170,7**
4 yaş üzeri	94	41	43,6 x	108	8	7,4 y	36,2**
Toplam	700	295	42,14	723	83	11,47	171,6**

a: Muayene edilen hayvan sayısı

b: Enfekte hayvan sayısı

c: enfeksiyon oranı

** : P< 0.01

x,y: Aynı sütunda değişik harf taşıyan değerler arasındaki fark önemli bulunmuştur.

Buna göre, 6-12 aylık grupta serolojik olarak muayene edilen 149 koyunun 33'ünde (%22,14), mikroskopik olarak muayene edilen 152 koyunun 7'sinde (%4,6); 1-2 yaş arasındaki grupta serolojik olarak muayene edilen 176 koyunun 95'inde (%53,9), mikroskopik olarak muayene edilen 176 koyunun 36'sında (%20,45); 2-3 yaş arasındaki grupta serolojik olarak muayene edilen 152 koyunun 68'inde (%44,7), mikroskopik olarak muayene edilen 152 koyunun 24'ünde (%15,8); 3-4 yaş arasındaki grupta serolojik olarak muayene edilen 129 koyunun 58'inde (%44,9), mikroskopik olarak muayene edilen 135 koyunun 8'inde (%5,9); 4 yaşın üzerindeki grupta serolojik olarak muayene edilen 94 koyunun 41'inde (%43,6), mikroskopik olarak muayene edilen 108 koyunun 8'inde (%7,4) ve toplam serolojik olarak muayene edilen 700 koyunun 295'inde (%42,14), mikroskopik olarak muayene edilen 723 koyunun 83'ünde (%11,47) B. ovis tespit edilmiştir.

Toplanan Kene Türleri ve Kenelerin Aylara Göre Dağılımları

Konya yöresinde Mayıs 1994- Nisan 1995 tarihleri arasında koyunlardan toplanan kene türleri ve kenelerin aylara göre dağılımları Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Konya yöresinde Mayıs 1994 - Nisan 1995 arasında koyunlardan toplanan kenelerin aylara göre dağılımı

Kene Türleri	Aylar														Topl
	Oc.	Şb.	Mrt.	Nis.	May.	Haz.	Tem.	Ağs.	Ey.	Ek.	Kas.	Ar.	♀	♂	
<u>Rh. bursa</u>			5	8	10	12	10	1					15	31	46
<u>Rh. turanicus</u>			50	230	261	175	85	15					305	511	816
<u>Rh. sanguineus</u>						1	1						-	2	2
<u>B. annulatus</u>									4				-	4	4
<u>D. niveus</u>	2										3		1	4	5
<u>H. punctata</u>	2											4	-	6	6
<u>H. otophila</u>	32	2									27		10	51	61
<u>O. lahorensis</u>	11	18										20	15	34	49
Toplam	47	20	55	238	271	188	96	16	4	0	30	24	346	643	989

Bu tablodan da anlaşılacağı gibi, Konya yöresi koyunlarında Rh. bursa, Rh. turanicus, Rh. sanguineus, B. annulatus, Dermacentor niveus, H. punctata, H. otophila ve O. lahorensis'e rastlanmıştır. Bunlardan Rh. bursa ve Rh. turanicus'a Mart ve Ağustos ayları arasında rastlanmış olup; Mayıs, Haziran ve temmuz aylarında Rh. bursa, Mayıs ayında da Rh. turanicus daha yoğun olarak saptanmıştır. Rh. sanguineus'a Haziran ve Temmuz aylarında çok az sayıda rastlanmıştır. B. annulatus'a sadece bir koyunda Eylül ayında, D. niveus'a Kasım ve Ocak aylarında, H. punctata'ya Aralık ve Ocak aylarında, H. otophila'ya Kasım, Ocak ve Şubat aylarında, O. lahorensis'e ise Aralık, Ocak ve Şubat aylarında tesadüf edilmiştir.

Konya yöresinde muayene edilen 723 koyunun 136'sı (%18.81) değişik kene türleri ile enfeste bulunmuştur. Üzerinde kene tespit edilen koyunların 92'sinde (%67.65) serolojik, 36'sında (%26.47) mikroskopik olarak B. ovis teşhis edilmiştir. B. ovis ile akut olarak enfekte olan koyunlarda Rh. turanicus, latent olarak enfekte olanlarda ise Rh. bursa ve Rh. turanicus keneleri tespit edilmiştir.

Konya Merkez, Cumra ve Beyşehir ilçelerinin Meteoroloji Kayıtları.

Mayıs 1994 ve Nisan 1995 tarihleri arasında Araştırma Merkezlerinin klimatolojik değerleri Tablo 6'da gösterilmiştir. Sarayönü ilçesine ait meteoroloji kayıtlarının bulunmamasından dolayı, bu ilçenin klimatolojik değerleri tabloda yer almamıştır.

Tablo 5 Mayıs 1994 ve Nisan 1995 tarihleri arasında Konya Merkez'in klimatolojik değerleri

Aylar	Isı*	Nem**	Yağış***
Mayıs	16,4	52,6	35,5
Haziran	20,2	39,7	7,1
Temmuz	23,3	37,9	5,2
Ağustos	22,7	36,8	0,6
Eylül	22,1	35,1	0,2
Ekim	14,7	59,4	38,0
Kasım	4,7	70,6	30,8
Aralık	-1,0	78,9	39,0
Ocak	0,1	77,9	34,5
Şubat	2,6	70,2	13,3
Mart	5,3	62,4	28,5
Nisan	8,4	62,0	63,9

* : Ortalama ısı (°C)

** : Ortalama nisbi nem (%)

***: Ortalama yağış (Kg/m²)

Tablo 6 Mayıs 1994 ve Nisan 1995 tarihleri arasında Çumra'nın klimatolojik değerleri

Aylar	Isı*	Nem**	Yağış***
Mayıs	16,7	57,2	11,8
Haziran	19,0	50,1	6,1
Temmuz	23,0	47,8	2,0
Ağustos	22,1	45,1	-
Eylül	21,0	46,5	0,7
Ekim	14,6	67,0	43,0
Kasım	5,4	73,1	65,9
Aralık	0,3	80,3	51,1
Ocak	1,8	75,1	30,1
Şubat	3,2	70,1	22,8
Mart	6,4	66,4	40,6
Nisan	9,2	65,1	28,9

* : Ortalama ısı (°C)

** : Ortalama nisbi nem (%)

***: Ortalama yağış (Kg/m²)

Tablo 7 Mayıs 1994 ve Nisan 1995 tarihleri arasında Beyşehir'in klimatolojik değerleri

Aylar	Isı*	Nem**	Yağış***
Mayıs	15,5	55,1	23,4
Temmuz	21,3	48,7	5,0
Ağustos	21,0	48,4	33,1
Eylül	19,8	54,5	2,7
Ekim	13,1	73,8	73,7
Kasım	4,0	78,7	129,2
Aralık	-0,8	81,9	69,9
Ocak	1,6	80,1	77,2
Şubat	2,8	77,6	26,1
Mart	5,2	72,0	54,1
Nisan	8,1	69,4	86,6

* : Ortalama ısı (°C)

** : Ortalama nisbi nem (%)

***: Ortalama yağış (Kg/m²)

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Koyunların en önemli kan parazitlerinden olan B. ovis, Türkiye'de yaygın olarak görülmektedir (6, 39, 44, 59, 84, 87, 97). Göksu (39), Orta Anadolu'da koyunlardan hazırlanan kan frotilerinde B. ovis'e %24,82 oranında rastlamıştır. Değer (21), Van ilindeki koyunlarda babesiosisin IFAT ile seroepidemiolojisi üzerine yapmış olduğu araştırmada %60.3 oranında B. ovis enfeksiyonu tespit etmiştir. Yine aynı yörede yapılan başka bir çalışmada (97), üzerinde kene bulunan koyunların mikroskopik kan muayenelerinde %0.85 oranında babeziyoza rastlanmıştır. Çakmak ve ark.(19), Samsun yöresindeki koyunlarda mikroskopik olarak %67, serolojik olarak %72 oranında B. ovis enfeksiyonu saptamışlardır. Güralp ve ark.(44)'nın, parazitolojik yönden muayene ettikleri Texel, Merinos, Kıvırcık koyunlar ve melezlerinde de babesiosis vakaları saptanmıştır. Kutsal (59), Adana'nın değişik yörelerindeki koyunlarda mikroskopik olarak B. ovis'i (%1,3) tespit etmiştir. Bu çalışmada, 723 koyunun kan frotisi muayene edilmiş ve 83'ünde (%11.47) B. ovis'in piroplasm formlarına rastlanmıştır. Serolojik olarak muayene edilen 700 koyunun 295'inde (%41,71) B. ovis antikorları tespit edilmiştir. Serolojik ve mikroskopik muayene sonuçlarının istatistik analizleri sonucu bu iki metot arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). Latent enfeksiyonların teşhisi açısından serolojik testlerin mutlaka uygulanması gerekmektedir. Van yöresinde birisi serolojik (21), diğeri mikroskopik (97) teşhise yönelik yapılan iki araştırmada serolojik bulgular %60.3 iken, mikroskopik bulguların %0.85 olması da bunu göstermektedir. Göksu (39), Türkiye'de koyun babesiyozunun en fazla görüldüğü ayların sırasıyla Temmuz, Haziran, Mayıs, Ağustos ve Eylül ayları olduğunu bildirmektedir. Değer (21), Van ilindeki koyunlarda B. ovis enfeksiyonunun en fazla görüldüğü

ayların Temmuz ve Ağustos olduğunu belirtmektedir. Özkoç ve ark.(87) ise B. ovis enfeksiyonunun Haziran ve Temmuz aylarında en yüksek düzeyde seyrettiğini bildirmektedirler. Özcan (84), Ankara ve civarında yapmış olduğu araştırmada, 4 yıllık ortalamaya göre koyunlarda babesiosisin en çok görüldüğü ayların Haziran, Temmuz ve Ağustos ayları olduğunu belirtmektedir. Konya yöresinde yapılan bu araştırmada serolojik bulgulara göre bütün bir yıl boyunca koyunlarda B. ovis'e karşı antikorların oluştuğu tespit edilmiştir. B. ovis'e en çok Temmuz ayında (%82) rastlanmış, bunu Haziran (%68), Mayıs (%67,2) ve Nisan (%65,4) ayları takip etmiştir. Diğer taraftan Aralık (%18,3), Ocak (%20) ve Şubat (%23,3) aylarında B. ovis antikorlarına çok az koyunda tesadüf edilmiştir. Mikroskobik bulgulara göre ise, babesiosise yine en fazla Temmuz ayında, bunu takiben de Mayıs, Haziran, Ekim ve Eylül aylarında rastlanmıştır. Tablo 5, 6 ve 7'de görüldüğü gibi Beyşehir, Çumra ve Konya Merkez'de Nisan ayından itibaren havaların ısınmasına paralel olarak B. ovis enfeksiyonunda bir artma görülmüştür. Elde edilen bulgular diğer araştırmacıların (39, 84, 87) bulgularına uymaktadır.

Babesia ovis'in en önemli vektörü Rh. bursa'dır (8, 28, 30, 33, 59). Ayrıca Rh. turanicus, H. anaticum excavatum, Ixodes ricinus ve I. persulcatus'un da B. ovis'in vektörü olduğu bildirilmektedir (30). Merdivenci (75), Türkiye'de koyun ve keçilerdeki babesiyoz etkenlerine Rh. bursa ve Rh. sanguineus'un vektörlük yaptığını bildirmektedir. Kutsal (59), Adana ve çevresinde yapmış olduğu araştırmada, B. ovis ile enfekte koyun üzerinde Rh. bursa'yı tespit etmiştir. Bearmann (8), B. ovis'in Rh. bursa ile taşındığını, ayrıca deneysel olarak Rh. turanicus ve H. anaticum excavatum'un da B. ovis'i naklettiğini ortaya koymuştur. Bu araştırmacı (8), Zaki'ye atfen, Mısır'da B. ovis enfeksiyonlarının %7.6 oranında görüldüğünü ve bu hastalığa ara konakçılık eden

kene türünün Rh. bursa olduğunu bildirmektedir. Koyunlarda B. ovis enfeksiyonlarının yayılışı ile ara konakçı kenelerin mevsimsel etkinlikleri arasında sıkı bir ilişki vardır. B. ovis'e ara konakçılık eden Rhipicephalus türlerinin Türkiye'de de görüldüğü bildirilmektedir (39, 40, 41, 57, 86, 87, 94, 97). Rh. bursa ve Rh. turanicus'un bilhassa yaz aylarında koyunlar üzerinde yoğun olarak görülmesi (39, 40, 41, 87, 94, 97), B. ovis'in Türkiye'de yaygın olabileceğini göstermektedir. Özkoç ve ark.(87), Marmara Bölgesinde Rh. bursa'nın merada ve koyunlarda Mayıs ayının ikinci yarısından sonra görüldüğünü ve bunu takiben de koyunlarda B. ovis enfeksiyonlarının başladığını bildirmektedirler. Göksu (40), Rh. bursa'nın epidemiyolojisi üzerine yaptığı çalışmada, bu kenenin olgunlarının Haziran ve Temmuz aylarında koyunlardan kan emdiklerini ve babesiose etkenlerini naklettiklerini bildirmektedir. İsrail'de Rh. bursa'nın mevsimsel dağılımları ve koyun babesiosisi ile ilişkisi üzerine yapılan bir çalışmada (113), Rh. bursa'nın olgunlarının Mart ve Temmuz ayları arasında görüldüğü bildirilmektedir. Bu çalışmada da Rh. bursa ve Rh. turanicus'a Mart ve Ağustos ayları arasında rastlanmış olup; Rh. bursa, en fazla Mayıs ve Haziran aylarında, Rh. turanicus ise en fazla Mayıs ayında görülmüştür. Ayrıca akut babesiyozlu koyunların üzerinde Rh. turanicus tespit edilmiştir. B. ovis ile latent olarak enfekte olan koyunlarda ise, hem Rh. bursa hem de Rh. turanicus bulunmuştur. Merdivenci (75), Rh. sanguineus'un da B. ovis'in vektörü olduğunu bildirmesine rağmen bu çalışmada B. ovis'le enfekte koyunların hiç birisinde Rh. sanguineus görülmemiştir.

Babesiosisin teşhisinde kullanılan serolojik testler, çoğunlukla sığır babeziyozu için uygulanmıştır. Özkoç (85), koyunlarda B. ovis enfeksiyonunun IFAT ile tespiti üzerine yaptığı çalışmada, bu testin duyarlı olduğunu

belirtmektedir. Çakmak ve ark.(19), Samsun yöresinde koyunlarda B. ovis'in serodiagnozu için IFAT'ni kullanmışlardır. ELISA testi ile babesia türlerine karşı oluşan antikorlar ilk kez Purnell ve ark.(91) tarafından sığır babeziyozunda tespit edilmiştir. Daha bir çok araştırmacı (10, 12, 13, 23, 108), ELISA testini sığır ve köpek babesiyozunun teşhisinde kullanmışlardır. Türkiye'de koyunlarda B. ovis'in ELISA testi ile teşhisi ilk kez Düzgün ve ark.(24) tarafından araştırılmıştır. Bu araştırmacılar (24) B. ovis'in teşhisinde sentetik B. bovis antijenini kullanmışlardır. Bu araştırmada ise antijen olarak B. ovis ile deneysel olarak enfekte edilen koyun eritrositleri kullanılmıştır. Konya yöresinde yapılan bu çalışmada mikroskobik olarak tespit edilemeyen B. ovis olgularının ELISA ile teşhis edilmesi bu testin oldukça duyarlı olduğunu göstermektedir.

Blood ve Radostits (11), hayvanlarda yaşa bağlı olarak enfeksiyona karşı duyarlılığın farklı olduğunu belirtmektedir. Bu araştırmacılar (11), en fazla enfeksiyonun 6-12 aylık hayvanlarda görüldüğünü, 5 yaşın üzerindeki hayvanlarda ise enfeksiyonun yaygın olmadığını bildirmektedirler. Değer (21), Van ilindeki koyunlarda B. ovis enfeksiyonunun en fazla 3-4 yaş arasındaki (%65) ve 6-12 aylık (%64.7) koyunlarda görüldüğünü tespit etmiştir. Konya yöresinde yapılan bu araştırmada enfeksiyonun görülme oranına göre, yaş grupları arasında istatistiki olarak önemli fark tespit edilmiştir ($p < 0.01$). Bu çalışmada serolojik olarak muayene edilen koyunlarda en yüksek enfeksiyon oranı, 1-2 yaş grubundaki koyunlarda (%53.9) tespit edilmiş olup, bunu sırasıyla 3-4 yaş (%44.9), 2-3 yaş (%44.7) ve 4 yaşın üzerindeki (%43.6) gruplar takip etmiştir. En düşük enfeksiyon oranı (%22.14) 6-12 aylık koyunlarda gözlenmiştir.

Mikroskobik muayenede ise gruplar arasındaki fark 1-2 yaş ve 2-3 yaş gruplarından kaynaklanmaktadır. Bu iki gruptaki enfeksiyon oranı diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Bu durumun anneden kazanılan pasif

bağışıklığın ortadan kalkması ile ilgili olduğu düşünülmektedir. 6-12 aylık gruptaki enfeksiyon oranı (%22.14), diğer gruplardan belirgin bir şekilde düşük çıkmıştır. Bu durum anneden kolostrum yolu ile kazanılan pasif bağışıklıktan kaynaklanmaktadır.

Mahoney (69), babesia enfeksiyonunun son safhalarında hematokrit değerinin %10'un altına kadar düşebileceğini belirtmesine rağmen, bu araştırmada muayene edilen koyunların hiç birisinde %18'in altında hematokrit değeri tespit edilememiştir. Koyunlarda hematokrit değerlerinin normal fizyolojik sınırları 24-49 olup, buna göre B. ovis ile enfekte koyunların hematokrit değerlerinde bariz bir farklılık gözlenmemiştir.

Bu araştırmadaki bulgulara göre, babesiosisin Konya yöresindeki koyunlarda da yaygın olarak görüldüğü ve hastalığın etkeninin B. ovis olduğu tespit edilmiştir. Muayene edilen 723 koyunun sadece ikisinde akut babesiyoz saptanmıştır. Diğer babesiyoz vakalarının latent olarak seyrettiği görülmüş ve mikroskopik muayenelerin hiç birisinde B. motasi'ye rastlanmamıştır.

Bu çalışmada B. ovis'le enfekte koyunlardaki kene türlerinin Rh. bursa ve Rh. turanicus olduğu gözlenmiştir. Ara konakçı kenelerin ilkbahar aylarında aktif hale gelmeleri ve bunu takip eden günlerde babesiyozun görülmeye başlamasından dolayı, enfeksiyonun ortaya çıkmasını önlemek için ilkbahar aylarından itibaren kene sezonu boyunca yoğun bir kene mücadelesinin yapılması gerekmektedir. Ayrıca, bu araştırma ile, koyunlarda B. ovis enfeksiyonunun prevalansını belirlemek amacıyla, sadece klinik ve mikroskopik metodlarla yetinilmemesi gerektiği, bunlara ilaveten serolojik teshis metodlarından da yararlanılmasının zorunluluğu ortaya konulmuştur.

8. ÖZET

Bu çalışma, Konya yöresindeki koyunlarda babesiosisin prevalansını, babesiosisi nakleden keneleri ve onların mevsimsel aktivitelerini tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

Bu araştırma Mayıs 1994-Nisan 1995 tarihleri arasında Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Sarayönü ilçelerinde yürütülmüştür. Bu ilçelere 12 ay boyunca gidilerek, toplam 723 koyun muayene edilmiştir. Muayene için bütün koyunlardan sürme ve kalın damla frotiler hazırlanmış ve serum çıkarmak için Vena jugularis'den yaklaşık 10'ar cc kan alınmıştır. Koyunlar kene yönünden incelenerek, mevcut keneler toplanmış ve teşhis edilmişlerdir.

Sürme ve kalın damla frotilerin mikroskopik muayeneleri sonucu, 83 (%11.47) koyun B. ovis yönünden müspet bulunmuştur. ELISA ile yapılan serolojik test bulgularına göre ise 700 adet koyunun 295 (%42.14) tanesinde B. ovis antikoru tespit edilmiştir. Serolojik ve mikroskopik muayene sonuçları B. ovis enfeksiyonlarına en çok Temmuz ayında rastlandığını göstermiştir.

Serolojik bulgulara göre, B. ovis en fazla 1-2 yaş (%53.9) grubundaki koyunlarda tespit edilmiş olup; bunu sırasıyla 3-4 yaş (%44.9), 2-3 yaş (%44.7) ve 4 yaşın üzerindeki (%43.6) koyunlar takip etmiştir. En az enfeksiyon oranı (%22.14) ise 6-12 aylık gruptaki koyunlarda tespit edilmiştir. Mikroskopik bulgulara göre B. ovis'e en fazla 1-2 yaş (%20.45) ve 2-3 yaş (%15.80) gruplarındaki koyunlarda, en az ise 6-12 aylık (%7) gruptaki koyunlarda rastlanmıştır.

Serolojik ve mikroskopik muayene sonuçlarının istatistik analizleri sonucu bu iki metot arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Enfeksiyonun görülme oranına göre, yaş grupları arasında da istatistiki olarak önemli fark tespit edilmiştir ($p<0.01$). Muayene edilen koyunlarda Rh. turanicus, Rh. bursa, Rh. sanguineus, D. niveus, B. annulatus, H. punctata ve H. otophila türü keneler tespit edilmiş olup, B. ovis ile enfekte koyunlarda sadece Rh. turanicus ve Rh. bursa'ya rastlanmıştır.



9. SUMMARY

This research-work was done in Konya and its some small towns (Çumra, Beyşehir, Sarayönü). Sixty sheep from Konya and each small town were examined monthly between the dates of May, 1994 and May, 1995. The blood samples were taken from each sheep and blood smears were prepared for microscopic examination. In addition, serum sample from each sheep was separated for the serologic diagnosis of *B. ovis* by ELISA immediately after centrifugation. Packed Cell Volume (PCV) values of the sheep were also determined. The sheep were examined for tick infestation, and collected ticks were identified by stereo microscopy.

At the results of microscopic examinations of 723 blood smears, *B. ovis* was diagnosed in 83 (11.47 %). However, *B. ovis* antibodies were determined serologically by ELISA in 295 (42.14 %) of 700 serum samples.


According to the result of both serologic and microscopic examinations, the seasonal prevalence of babesiosis in sheep was highest in July. When the age prevalence of *B. ovis* infection diagnosed by ELISA was evaluated, the highest prevalence (53.9 %) was found at the 1-2 age group. This was respectively followed by 3-4 age group (44.9 %), 2-3 age group (44.7 %) and the group older than 4 years old (43.6 %). The lowest prevalence (22.14 %) was found in sheep aging 6-12 months. However, according to the results of microscopic examination, the highest seasonal prevalence of *B. ovis* was found at the 1-2 age

group (20.45%) and 2-3 age group (15.80%) respectively. The sheep aging 6-12 months (7%) had the lowest prevalence.

PCV values of the sheep did not show significant difference.

There was significant differences ($p < 0.01$) between the results of microscopic and serologic examinations. Significant differences were also found among the age groups of sheep ($p < 0.01$).

The results of the collected tick examinations showed that Rh. bursa and Rh. turanicus which are the vectors of B. ovis had the highest prevalence at the dates of between April and August. The other tick species; Rh. turanicus, D. niveus, B. annulatus, H. punctata and H. otophila were identified at the various period of study.



10. LİTERATÜR LİSTESİ

1. **Achuthan, H. N., Mahadevan, S., Lalitha, C. M. (1980).** Observation on the transmission of Babesia bigemina and B. canis infections through blood inoculation. *Cheiron*, 9: 2-3.
2. **Alabay, M., Düzgün, A. Çerçi, H. (1987).** Ovine Babesiosis: Induction of a protective immune response with crude extracts of either Babesia bovis or B. ovis. *Res.Vet.Sci.* 43: 401-402.
3. **Alani, A. J., Herbert, I. V. (1988).** The pathogenesis of Babesia motasi (Wales) infection in sheep. *Vet. Parasitol.*, 27: 209-220.
4. **Alani, A. J., Herbert, I. V. (1988).** The morphometrics of Babesia motasi (Wales) and its transmission by Haemaphysalis punctata (Canestrini and Fanzago 1877) to sheep. *Vet.Parasitol.*, 30 (2): 87-95.
5. **Alani, A. J., Konrad, J., Herbert, I. V. (1987).** Serodiagnosis of Babesia motasi (Wales), Theileria recondita (Wales) and Cytoecetes phagocytophila infection in sheep. *Res.Vet.Sci.*, 43: 104-108.
6. **Anon (1976).** Anaplasmosis, Piroplasmosis and Theileriosis amongst cattle and sheep in Turkey and the control of disease. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 86: 27-33.
7. **Barry, D. N., Parker, R. J., De Vos, A. J., Punster, P., Rodwell, B. J. (1986).** A microplate enzyme-linked immunosorbent assay for measuring antibody to Anaplasma marginale in cattle serum. *Aust. Vet. J.*, 63 (3): 76-79.

8. **Beermann, P. (1987).** Übertragung von Babesia ovis durch Rhipicephalus turanicus und Hyalomma anatolicum excavatum. Ausdem Institut für Parasitologie der Tierarztl. Hochsch., Diss., Hannover.
9. **Bhaskara Rao, P., Surendran, N. S., Ramachandra Rao, P. V. (1989).** Study on outbreaks of Babesiosis in sheep in Andhra Pradesh. Indian Vet. J., 66: 348-351.
10. **Bidwell, D. E., Turp, P., Joyner, L. P., Payne, R. C., Purnell, R. E. (1978).** Comparisons of serological tests for Babesia in British cattle. Vet.Rec., 103: 446-449.
11. **Blood, D. C., Radostits, O. M. (1989).** " Veterinary Medicine : A Textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses". Seventh ed. ELBS, Bailliere, Tindall, London.
12. **Bobade, P. A., Oduye O. O. (1986).** Antibody titres in naturally occurring Babesia canis infections in dogs. Rev. Elev. Med. Vet.Pays Trop.,39 (2): 185-188.
13. **Bobade, P. A., Oduye, O. O., Aghomo, H. O. (1989).** Prevalence of antibodies against Babesia canis in dogs in an endemic area. Rev. Elev. Med. Vet.Pays Trop., 42 (2): 211- 217.
14. **Boch, J., Supperer, R. (1983).** " Veterinarmedizinische Parasitologie". 3. Auflage. Verlag Paul Parey, Berlin.
15. **Bshop, J. P., Adams, L. G. (1973).** Combination thin and thick blood films for the detection of Babesia parasitemia. Am. J. Vet. Res., 34: 1213-1214.
16. **Burrels, C., Dawson, A. M. (1982).** ELISA Methodology: Variations in technical procedures. In: Wardley,R.C. and Crowther,J.R. (eds), The ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay in veterinary research and diagnosis. Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science. 22, Martinus Nijhoff Publishers, 1-9.

17. **Callow, L. L., Mc Gregor, W., Parker, R. J., Dalglish, R. J. (1974).** Immunity of cattle to Babesia bigemina following its elimination from the host, With observations on antibody levels detected by the indirect fluorescent antibody test. Aust.Vet.J., 50: 12-15.
18. **Çakmak, A. (1987).** Untersuchungen zur Inzidenz von Haemoparasiten in der Provinz Ankara, Tierarztl. Hochsch., Diss., Hannover.
19. **Çakmak, A., Dinçer, Ş., Karaer, Z. (1991).** Samsun yöresinde koyunlarda Babesia ovis'in serodiagnozu üzerine araştırmalar. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 38 (1-2): 242-251.
20. **Dalglish, R. J. (1971).** Dimethyl Sulphoxide in Low- temperature preservation of Babesia bigemina. Res.Vet.Sci., 12: 469-471.
21. **Değer, S. (1990).** Van ilinde koyunlarda Babesiosisin seroepidemiolojisi üzerine araştırmalar. Doktora tezi. A. Ü. Sağlık Bil. Ens., Ankara.
22. **Düzgün, A., Schuntner, C. A., Wright, I. G., Leatch, G., Waltisbuhl, D. J. (1988).** A Sensitive ELISA Technique for the Diagnosis of Anaplasma marginale Infections. Vet. Parasitol., 29: 1-7.
23. **Düzgün, A., Alabay, M., Çerçi, H., Emre, Z., Çakmak, A. (1992).** A serological survey using ELISA for Babesia bovis infection of cattle in Turkey. IAEA-TECDOC-657, 175-177.
24. **Düzgün, A., Wright, I. G., Waltisbuhl, D. J., Gale, K. R., Goodger, B. V., Dargie, J. D., Alabay, M., Çerçi, H. (1991).** An ELISA for the diagnosis of Babesia ovis infection utilizing a synthetic, Babesia bovis-derived antigen. Vet. Parasitol., 39: 225-231.
25. **Engvall, E., Perlmann, P. (1972).** Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA: III. Quantitation of spesific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen- coated tubes. J. Immunol., 109 (1): 129-135.

26. **Euzeby, J. (1988).** Les Hemoprotozooses des ovins en France. Rev. Med. Vet., 139 (1): 69-81.
27. **Fischer, M. S., Say, R. R. (1989).** " Manuel of Tropical Veterinary Parasitology". C.A.B. International, Aberystwyth.
28. **Friedhoff, K. T. (1981).** Morphologic Aspects of Babesia in the tick.In:" Babesiosis", Ed.by: Ristic, M. and Kreier, J.P. Academic Press.New York.
29. **Friedhoff, K. T. (1983).**Development and transmission of Babesia spp. Parasitological symposium, Lyons.
30. **Friedhoff, K. T. (1988).** Transmission of Babesia. In: "Babesiosis of Domestic Animals and Man". Ed. by: Ristic, M. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
31. **Friedhoff, K. T., Kahler, J.(1989).**Immunogenicity of development of Babesia ovis from the ovary of Rhipicephalus bursa. Abstracts of Papers Presented at the Workshop Arachno-Entomologie, 264-265.
32. **Friedhoff, K. T., Scholtyseck, E. (1977).** Fine structural identification of erythrocytic stages of Babesia bigemina, B. divergens and B. ovis. Protistologica, 13 (2): 195-204.
33. **Friedhoff, K. T., Smith, R. D. (1981).** Transmission of Babesia by ticks.In: " Babesiosis", Ed.by: Ristic, M. and Kreier, J.P., Academic Press, New York.
34. **Galker, F., Yeruham, I., Hadani, A., Rubina, M., Rosen, S., Gunders, A. E. (1987).** Host-parasite relationships in the tick Rhipicephalus bursa (Canestrini and Fanzago, 1877) and the parasite Babesia ovis. Israel J. Vet. Med., 43 (1): 74- 75.
35. **Goldman, M., Pipano, E., Rosenberg, A. S. (1972).** Fluorescent Antibody tests for Babesia bigemina and Babesia berbera. Res.Vet.Sci., 13: 77-81.

36. **Goodger, B. V., Mahoney, D. F. (1974).** Evaluation of the passive haemagglutination test for the diagnosis of Babesia argentina infection in cattle. Aust. Vet. J., 50: 246-249.
37. **Goodger, B. V., Mahoney, D. F. (1974).** A rapid slide agglutination test for the herd diagnosis of Babesia argentina infection. Aust. Vet. J., 50: 250-254.
38. **Goodger, B. V., Wright, I. G., Waltisbuhl, D. J. (1983).** The lysate from bovine erythrocytes infected with Babesia bovis. Z. Parasitenkd, 69: 473-482.
39. **Göksu, K. (1967).** Yerli koyunlarımızda Babesidae ve Theloridae'lerin epizootiyolojik durumlarıyla biyolojilerine dair araştırmalar. A.Ü. Vet. Fak. Yay. 205, Çalışmalar: 107. A.Ü. Basımevi, Ankara.
40. **Göksu, K. (1969).** Rhipicephalus bursa Canestrini ve Fanzago, 1877 (Acarina: Ixodoidea) nın saha ve laboratuvar şartlarında biyo-ekolojisi üzerinde araştırmalar. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 16 (4): 295-312.
41. **Göksu, K., Özgencil, B. (1970).** Kuzu ve koyunda Rhipicephalus sanguineus Latreille, 1806 (Acarina: Ixodoidea)'dan ileri gelen dış kulak derisi lezyonları. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 17 (1): 6-17.
42. **Göksu, K., Tüzer, E. (1981).** Kenelerin ve neden oldukları hastalıkların önemi. İ. Ü. Vet. Fak. Derg., 7 (1): 69-113.
43. **Gray, J. S., Kaye, B. (1991)** Studies on the use of gerbil-derived Babesia divergens antigen for diagnosis of bovine babesiosis. Vet. Parasitol., 39: 215-224.
44. **Güralp, N., Sayın, F., Tiğın, Y., Tınar, R. (197).** Texel, Merinos ve kıvırcık koyunlar ile melezlerinde görülen parazit türleri, bunların enfeksiyon oranı ve savaş çareleri. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 22 (1-2): 1-17.

45. **Habela, M. A., Reina, D., Navarrete, I. (1990).** Isolation and identification of Babesia ovis in Extramedura (Spain). Vet. Parasitol., 35: 1-10.
46. **Habela, M. A., Reina, D., Navarrete, I., Redondo, E., Hernandez, S. (1991).** Histopathological changes in sheep experimentally infected with Babesia ovis. Vet. Parasitol., 38: 1-12.
47. **Hall, W. T. K., Tammemagi, L., Johnston, L. A. Y. (1968).** Bovine Babesiosis: The immunity of calves to Babesia bigemina infection. Aust. Vet. J., 44: 259-264.
48. **Hashemi-Fesharki, R. (1991).** Ovine and caprine babesiosis in Iran: treatment with imidocarb. Vet.Rec., 129: 383- 384.
49. **Hashemi-Fesharki, R., Uilenberg, G. (1981).** Babesia crassa n.sp. (Sporozoa, Babesiidae) of domestic sheep in Iran. Vet. Q., 3 (1): 1-8.
50. **Hiepe, T., Jungman, R. (1983).** "Lehrbuch der Parasitologie. Veterinarmedizinische Protozoologie". Band 2, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
51. **İnci, A. (1992).** Ankara'nın Çubuk ilçesinde sığırlarda Babesiosis'in seroinsidensi üzerine araştırmalar. Doktora tezi. A. Ü. Sağlık Bil. Ens., Ankara.
52. **Jensen, R., Swift, L. (1982).** "Diseases of Sheep". Second edition. Lea Febiger, Philadelphia.
53. **Johnston, L. A. Y., Pearson, R. D., Leatch, G. (1973).** Evaluation of an Indirect Fluorescent Antibody test for Detecting Babesia argentina infection in cattle. Aust. Vet. J., 49: 373-377.
54. **Johnston, L. A. Y., Trueman, K. F., Pearson, R. D. (1977).** Bovine Babesiosis: Comparison of Fluorescent antibody and Giemsa Staining in Post-mortem diagnosis of infection. Aust. Vet. J., 53: 222-226.

55. Johnston, L. A. Y., Kemp, D. H., Pearson, R. D. (1986). Immunization of cattle against Boophilus microplus using extracts derived from adult female ticks: effects of induced immunity on tick populations. *Int. J. Parasitol.*, 16 (1): 27-34.
56. Kachani, M., Spooner, R. L., Rae, P., Bell-Sakyi, L., Brown, C. G. D. (1992). Stage-specific responses following infection with Theileria annulata as evaluated using ELISA. *Parasitol. Res.*, 78: 43-47.
57. Karaer, Z. (1983). Ankara ili ve civarında bulunan kene türleri ile Hyalomma detritum'un (Schulze,1919) bazı ekolojik özellikleri üzerine araştırmalar. TÜBİTAK-VII. Hayvancılık Kongresi Tebliği.
58. Kreier, J. P., Baker, J. R. (1987). " Parasitic Protozoa ". Allen and Unwin. Inc., Boston.
59. Kutsal, T. (1977-1978). Adana bölgesi koyun kan protozoonları. *Etlik Vet. Mikrob. Enst. Derg.*, 4: 11-12.
60. Kuttler, K. L. (1988). World-wide impact of Babesiosis. In:" Babesiosis of Domestic Animals and Man". Ed. by: Ristic, M. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
61. Kuttler, K. L., Adams, L. G., Todorovic, R. A. (1977). Comparisons of the complement-fixation and indirekt fluorescent antibody reactions in the detection of bovine babesiasis. *Am. J. Vet.Res.*, 38 (2): 153-156.
62. Kyurtov, N. (1967). Study of the complement Fixation test in Anaplasmosis and Babesiellosis in sheep. *Vet. Med. Nauki.*, 4 (4): 23-28.
63. Kyurtov, N. (1976). Use of the Immunofluorescence reaction in the diagnosis of Babesiasis. *Vet. Med. Nauki.*, 13 (7): 61-66.
64. Levine, N. D. (1985). " Veterinary Protozoology". First edition. Iowa state University Press, Ames.

65. **Lewis, D., Herbert, I. (1980).** A large babesia of sheep from North Wales. Vet. Rec., 11: 352-353.
66. **Mahoney, D. F. (1962).** Bovine Babesiosis: Diagnosis of Infection by a complement Fixation Test. Aust. Vet. J., 2: 48-52.
67. **Mahoney, D. F. (1967).** Bovine babesiosis: The passive immunization of calves against Babesia argentina with special reference to the role of complement fixing antibodies. Exp. Parasitol., 20: 119-124
68. **Mahoney, D. F. (1967).** Bovine babesiosis: Preparation and Assesment of Complement Fixing Antigens. Exp. Parasitol., 20: 232-241.
69. **Mahoney, D. F. (1977).** Babesia of Domestic Animals. In: "Parasitic Protozoa" Volume IV, Ed.by: Kreier, J.P. Academic Press, London.
70. **Mahoney, D. F. (1983).** Studies on the protection of cattle against Babesia bovis infection. In: "Tropical Parasitoses and Parasitic Zoonoses". Ed. Jon D. Dunsmore. 93-104.
71. **Mahoney, D. F., Saal, J. R. (1961).** Bovine babesiosis: Thick blood films for the detection of parasitaemia. Aust. Vet. J., 2: 44-47.
72. **Majaro, O. M., Dipeolu, O. O. (1986).** Spontaneous infections of tick-borne blood parasites in splenectomized indigenous sheep and goats in Ibadan, Nigeria. Rev. Elev. Med.Vet.Pays Trop., 39 (2): 189-191.
73. **McCosker, P. J. (1981).** The Global importance of Babesiosis. In: "Babesiosis", Ed.by: Ristic, M. and Kreier, J.P. Academic Press, New York.
74. **Mc Hardy, N., Woollon, R. M., Clampitt, R. B., James, J. A., Crawley, R. J. (1986).** Efficacy, toxicity and metabolism of imidocarb dipropionate in the treatment of Babesia ovis infection in sheep. Res.Vet.Sci., 41: 14-20.

75. **Merdivenci, A. (1969).** Türkiye Keneleri Üzerine Araştırmalar. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yay., Kutulmuş Basımevi, İstanbul.
76. **Meshkov, S., Zapryanov, M. (1985).** Piroplasmid infections in ruminants on pastures of Strandzha-Sakar. Veterinarna Sbirka, 83 (3): 30-31.
77. **Mimioğlu, M. M., Göksu, K., Sayın, F. (1969).** Veteriner ve Tıbbî Protozooloji II. A.Ü. Vet. Fak. Yay. 248, Ders kitabı: 150, A.Ü. Basımevi, Ankara.
78. **Mohamed A. A., Yagoub, I. A. (1990).** Outbreaks of babesiosis in domestic livestock in the eastern region of the Sudan. Trop. Anim. Hlth. Prod., 22 (2): 123-125.
79. **Moltmann, U. G., Mehlhorn, H., Friedhoff, K. T. (1982).** Ultrastructural study of the development of Babesia ovis (Piroplasmia) in the ovary of the vector tick Rhipicephalus bursa. J. Protozool. 29 (1): 30-38.
80. **Montealegre, F., Montenegro-James, S., Kakoma, I., Ristic, M. (1987).** Detection of Culture-derived Babesia bovis exoantigen using a two-site Enzyme immunoassay. J. Clin. Microb., 25 (9): 1648-1652.
81. **Morzaria, S. P., Young, A. S. (1977).** Identification of Babesia bigemina in the tick Boophilus decoloratus by immunoassay. Vet. Parasitol., 18: 1-12.
82. **Nierlich, S. (1990).** Ein ELISA zur serodiagnose von Babesia ovis-infectionen beim schaf. Tierarztl. Hochsch., Diss., Hannover.
83. **O'donoghue, P. J., Friedhoff, K. T., Vizcaino, O. G. and Weyreter, H. (1985).** The detection of IgM and IgG antibodies against Babesia bigemina in bovine sera using semi-defined antigens in Enzyme Immunoassays. Vet. Parasitol., 18, 1-12.

84. **Özcan, H. C. (1961).** Ankara ve civarında evcil hayvanlarda görülen piroplasmose vakaları ve tedavileri üzerinde araştırmalar. A.Ü. Vet. Fak. Yay. 143, Çalışmalar: 83, A.Ü. Basımevi, Ankara.
85. **Özkoç, Ü., (1979).** Studies in the serological diagnosis of Babesia ovis infection in sheep by the Fluorescent Antibody technique. Pendik Vet. Mikrobiol. Enst. Derg., 11: 70- 83.
86. **Özkoç, Ü. (1981).** Babesia ovis'le deneysel olarak enfekte edilen Rhipicephalus bursa'nın sekizinci evresine kadar parazitin transovarial nakli üzerinde araştırma. Pendik Vet. Mikrob. Enst.Derg. 13 (2): 14-21.
87. **Özkoç, Ü., Onar, E., Doğru ,C. (1982).** Marmara bölgesinde Rhipicephalus bursa (Ixodoidea)'nın mevsimsel etkinliğinin koyunların Babesia ovis enfeksiyonunun epidemiyolojisi ile ilişkisi üzerine araştırma. Pendik Vet. Mikrob. Enst. Derg., 14 (1-2): 44-52.
88. **Papadopoulos, B. (1990).** Ticks and Piroplasms of domestic animals in the Macedonia region of Greece. Revue-Suisse- de-Zoologie, 97 (4): 782.
89. **Pipano, E.(1990).** Observations on the seasonal distribution of Blood Parasites in sheep in Israel. Isr. J. Vet. Med. 46 (1): 37-38.
90. **Purnell, R. E. (1981).** Babesiosis in Various Hosts.In: Babesiosis, Ed.by: Ristic, M. and Kreier, J.P. Academic Press, New York.
91. **Purnell, R. E., Hendry, D. J. (1976).** Microplate enzyme linked immunosorbent assay for antibody to Babesia divergens in cattle. Vet. Rec., 99: 102.
92. **Reid, J. F., Armour, J., Jennings, F. W., Urquart, G. M. (1976).** Babesia in sheep- first isolation. Vet.Rec. 99: 419.

93. Ross, J. P. J., Löhr, K. F. (1968). Serological diagnosis of Babesia bigemina infection in cattle by Indirect Fluorescent Antibody Test. Res. Vet. Sci., 9: 557-562.
94. Sayın, F., Dumanlı, N. (1982). Elazığ bölgesinde evcil hayvanlarda görülen kene (Ixodoidea) türleri ile ilgili epizootiyolojik araştırmalar. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 29 (3-4): 344-362.
95. Soulsby, E. J. L. (1982)." Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals". Seventh edition, Bailliere-Tindall, London.
96. Takata, Y. (1994). Oxidative damage to erythrocytes of dogs infected with Babesia gibsoni. Jpn. J.Vet.Res., 42 (1): 27-70.
97. Taşçı, S. (1989). Van bölgesinde sığır ve koyunlarda görülen kene türleri ile bunların taşıdığı kan parazitleri (Protozoon) arasındaki ilişkiler. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 36 (1): 53-63.
98. Tenter, A. M., Friedhoff, K. T. (1986). Serodiagnosis of experimental and natural Babesia equi and B. caballi infections. Vet. Parasitol., 20: 49-61.
99. Todorovic, R. A. (1975). Serological diagnosis of Babesiosis: A review. Trop. Anim. Hlth. Prod., 7: 1-14.
100. Todorovic, A., Kuttler, K. L. (1974). Babesiosis card agglutination test. Am. J. Vet. Res., 35 (10): 1347-1350.
101. Todorovic, R. A., Carson, C. A. (1981). Methods for Measuring the Immunological Response to Babesia. In: "Babesiosis, Ed.by: Ristic, M. and Kreier, J.P." Academic Press, New York.
102. Trifonov, T., Rusev, V. (1989). Epidemiological study of piroplasmosis and its tick vectors among sheep and cattle in the Stranja area of Bulgaria. II. Tick vectors. Veterinarna Sbirka, 87 (10): 36-38.

103. Uilenberg, G. (1976). Tick-borne livestock diseases and their vectors. World Anim. Rev., 17: 8-15.
104. Uilenberg, G., Rombach, M. C., Perie, N. M., Zwart, D. (1980). Blood parasites of sheep in Netherlands. II. Babesia motasi (Sporozoa, Babesiidae). Vet. Q., 2 (1): 3-14.
105. Urquart, G. M., Armour, J., Duncan, J. L., Dunn, A. M., Jennings, F. W. (1988). "Veterinary Parasitology". Longman group UK Ltd. Avon.
106. Vicente, F. S., Martin, V. R., Grandes, E. A., Martin, F. S.(1987). Bovine and ovine theileriosis and babesiosis in Province of Salamanca. Rev. Iber. Parasitol. 1: 31-37.
107. Walker, P. J. (1966). Freeze preservation of parasitic protozoa. Laboratory Practice, 15: 423-426.
108. Wanduragala, L., Kakoma, I., Clabaugh, G. W., Abeygunawardena, I., Levy, M. G., Ristic, M. (1987). Development of dot-enzyme immunoassay for diagnosis of canine babesiosis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 36 (1): 20-21.
109. Weiland, G., Reiter, I. (1988). Methods for the measurement of the serological response Babesia. In: "Babesiosis of Domestic Animals and Man. Ed. by: Ristic, M." CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
110. Wright, I.G. (1973). Observations on the haematology of experimentally induced Babesia argentina and B.bigemina infections in splenectomised calves. Res. Vet. Sci.,14: 29- 34.
111. Wright, I. G., Goodger, B. V. (1988). Pathogenesis of Babesiosis. In: "Babesiosis of Domestic Animals and Man. Ed. by: Ristic, M." CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.

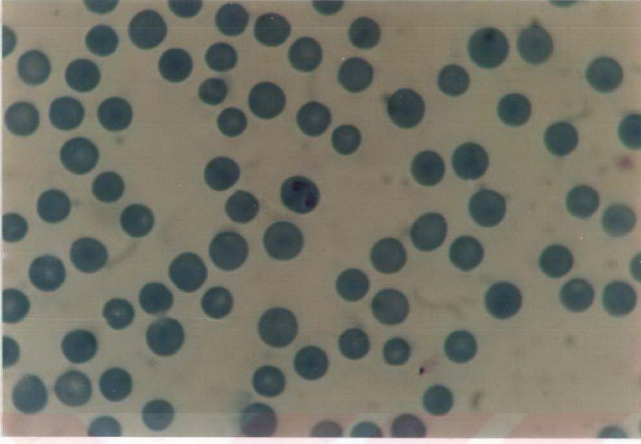
112. Wright, I. G., Goodger, B. V., Leatch, G., Aylward, J. H., Rode-Bramanis, K., Waltisbuhl, D. J. (1987). Protection of Babesia bigemina-immune animals against subsequent challenge with virulent Babesia bovis. *Inf. Immun.*, 1: 364-368.
113. Yeruham, I., Galker, F., Hadani, A., Rosen, S. (1986). Seasonal distribution of the tick Rhipicephalus bursa in Israel as related to the incidence of sheep babesiosis. *Scientific Meetings in Israel*, 22 (11): 853.
114. Yeruham, I., Hadani, A., Galker, F., Rosen, Sh. (1989). Notes on the biology of tick Rhipicephalus bursa (Canestrini and Fanzago, 1877) in Israel. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, 42 (2): 233-235.
115. Yeruham, I., Hadani, A., Galker, F., Mauer, E., Rubina, M., Rosen, S. (1985). The geographical distribution and animal hosts of Rhipicephalus bursa (Canestrini and Fanzago, 1877) in Israel. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, 38 (2): 173-179.
116. Young, A. S. (1988). Epidemiology of Babesiosis. In: "Babesiosis of Domestic Animals and Man. Ed. by: Ristic, M." CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
117. Young, A. S., Morzaria, S. P. (1986). Biology of babesia. *Parasitology Today*. 2 (8): 211-219.

11. ÖZGEÇMİŞ

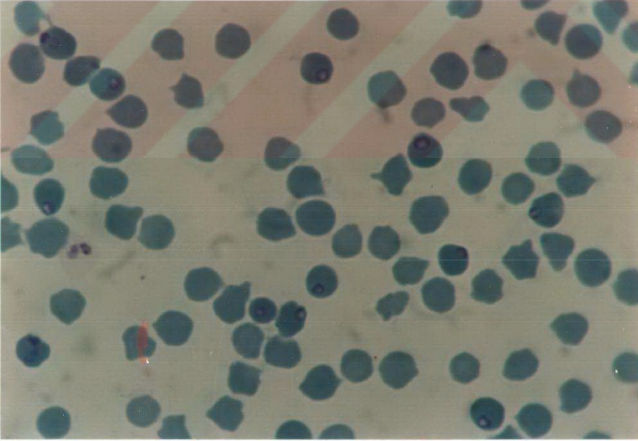
1967 yılında Adana'nın Kozan ilçesinde doğdum. İlk, Orta ve Lise tahsilimi Kozan'da tamamladım. 1985 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne girdim ve 1990 yılında mezun oldum. 1991 yılında aynı Fakülte'nin Parazitoloji Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak girdim ve Ekim 1991'de Doktora'ya başladım. Halen aynı kürsüde Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım. Evliyim ve bir çocuk annesiyim.

12. TEŞEKKÜR

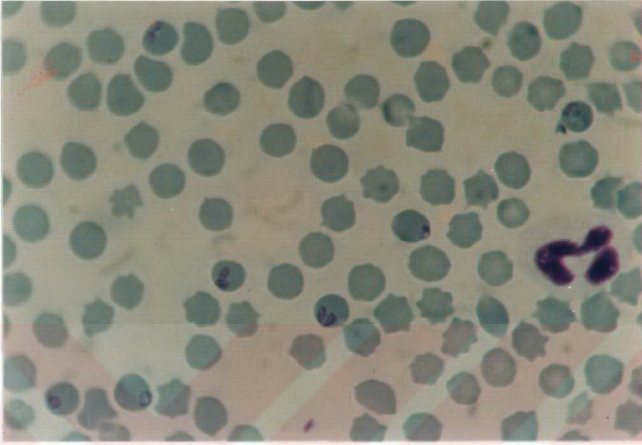
Bu araştırmayı maddi yönden destekleyen Selçuk Üniversitesi Araştırma Fonu'na teşekkür ederim. Asistan olarak göreve başladığım günden bu yana benden yardımlarını esirgemeyen danışman hocam **Doç. Dr. Bilâl Dik**'e sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim. Doktora çalışmalarım sırasında bana her konuda yardımcı olan **Doç. Dr. Ayşe Çakmak** ve **Doç. Dr. Zafer Karaer**'e ilgilerinden dolayı çok teşekkür ederim. ELISA testinin uygulanması sırasında bana özveriyle yardım eden Nükleer Atom Enerjisi Kurumu Parazitoloji Bölümü elemanlarından **Veteriner Hekim Ali Düzgün**'e çok minnettarım. Ayrıca saha çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen **Doç. Dr. Mehmet Güler**'e ve **Sağl. Tekn. Metin Yıldız**'a yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.



Resim 1. Akut babesiosisli bir koyunun kan frotisinde Babesia ovis'in piroplasm formları (çift armut formunda)



Resim 2. Akut babesiosisli bir koyunun kan frotisinde Babesia ovis'in piroplasm formları (oval formda)



Resim 3. Akut babesiosisli bir koyunun kan frotisinde Babesia ovis'in piroplasm formları (karışık formda)