

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KAHRAMANMARAŞ YÖRESİNDE KEÇİLERDE
GÖRÜLEN BABESİA VE THEILERIA TÜRLERİNİN REVERSE
LINE BLOTTING YÖNTEMİYLE
ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Zahid Emre KOCABEYOĞLU**

**Tezi Yöneten
Doç.Dr.Anıl İÇA**

**Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Eylül 2009
KAYSERİ**

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KAHRAMANMARAŞ YÖRESİNDE KEÇİLERDE
GÖRÜLEN BABESİA VE THEILERIA TÜRLERİNİN REVERSE
LINE BLOTTING YÖNTEMİYLE
ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Zahid Emre KOCABEYOĞLU**

**Tezi Yöneten
Doç.Dr.Anıl İÇA**

**Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-08-549 nolu
proje ile desteklenmiştir**

**Eylül 2009
KAYSERİ**

Doç.Dr.Anıl İÇA danışmanlığında **Zahid Emre KOCABEYOĞLU** tarafından hazırlanan: **“Kahramanmaraş Yöresinde Keçilerde Görülen *Babesia* ve *Theileria* Türlerinin Reverse Line Blotting (RLB) Yöntemiyle Araştırılması”** konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Parazitoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

04/09/2009

JÜRİ

Başkan : Prof. Dr. Abdullah İNCİ

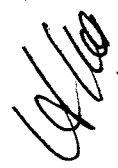
İmza



Üye : Prof. Dr. Süleyman YAZAR



Üye : Doç. Dr. Anıl İÇA (Danışman)



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince beni yönlendiren, bilgi ve ilgisini esirgemeyen, danışman hocam Sayın Doç.Dr.Anıl İÇA'ya, bu süreçte bilgi ve görüşlerinden faydalandığım değerli hocalarım Sayın Prof.Dr.Abdullah İNCİ ve Doç.Dr.Alparslan YILDIRIM'a, laboratuvar çalışmalarını süresince yardımlarını esirgemeyen Araş.Gör.Önder DÜZLÜ ve Biyolog Zuhal BİŞKİN'e, saha çalışmalarım esnasında yardımda bulunan mesai arkadaşlarıma, maddi ve manevi olarak sürekli yanımda olan eşime ve bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde maddi desteği sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığına teşekkürlerimi borç bilirim.

**KAHRAMANMARAŞ YÖRESİNDE KEÇİLERDE GÖRÜLEN *BABESİA* VE
THEİLERİA TÜRLERİNİN REVERSE LINE BLOTTING (RLB)
YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Bu çalışma Kahramanmaraş yöresinde Reverse Line Blotting (RLB) testi ve mikroskopik bakı ile keçilerdeki *Babesia* ve *Theileria* türlerinin prevalansını tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla Kahramanmaraş merkez ilçe, belde ve köylerine gidilerek klinik belirti göstermeyen sağlıklı hayvanlardan rasgele 300 keçi seçilmiştir. Bu keçilerden RLB için EDTA'lı tüplere vena jugularis' den, tekniğe uygun olarak kan alınmıştır. Kanlar RLB testi ile *Babesia ovis*, *Babesia motasi*, *Babesia crassa*, *Theileria ovis*, *Theileria lestoquardi* yönünden incelenmiştir. Aynı zamanda hayvanların kulak uçlarından hazırlanan 300 perifer kan frotisinin mikroskopik muayenesi yapılmıştır.

Mikroskopik muayene sonucunda 1 (% 0,33) örnekte *Babesia* spp. saptanmış buna karşın *Theileria* spp. tespit edilememiştir.

RLB ile toplam 300 keçi kan numunesinin 4 tanesinde (% 1,33) *Babesia ovis* tespit edilirken, 1 tanesinde (% 0,33) *Theileria ovis* tespit edilmiştir. 0-1 yaş aralığındaki 79 adet keçide etkenlere rastlanmazken, 1-3 yaş aralığındaki 131 adet keçinin 2'sinde (%1,52) *Babesia ovis*, 3 yaş üstü 90 adet keçinin 3'ünde (% 1,66) *Babesia ovis* ve *Theileria ovis* tespit edilmiştir. *Babesia motasi*, *Babesia crassa* ve *Theileria lestoquardi*'ye rastlanmamıştır.

Anahtar kelimeler: *Babesia*, keçi, prevalans, RLB, *Theileria*

**INVESTIGATION OF *BABESIA* AND *THEILERIA* SPECIES IN
GOATS BY REVERSE LINE BLOTTING METHOD
AROUND KAHRAMANMARAŞ**

ABSTRACT

This study was carried out on goats to detect *Babesia* and *Theileria* prevalence by Reverse Line Blotting (RLB) test and microscopic examination around Kahramanmaraş. In this purpose, by visiting centre district, city and vicinity of Kahramanmaraş, 300 healthy goats that did not show any clinical symptoms have been randomly chosen. Blood samples were collected from the vena jugularis of these goats into the tubes with EDTA due to its technique. These blood samples were investigated against *Babesia ovis*, *Babesia motasi*, *Babesia crassa*, *Theileria ovis* and *Theileria lestoquardi* using RLB test. In addition, 300 peripheral blood smears were prepared from the animal's ear tips and examined under a microscope.

In conclusion of the microscopical examination, *Babesia* spp. was determined in 1 (0, 33 %) sample. However, *Theileria* spp. was not detected.

Using RLB, *Babesia ovis* was determined in 4 (1, 33 %) of 300 goats' blood samples totally, while *Theileria ovis* was observed in 1 (0, 33 %) sample. While no agent was found in 79 goats at the age of 1-3, 2 (1, 52%) of 131 goats at the age of 1-3 were infected with *Babesia ovis* and 3 (1, 66%) of 90 goats over the age of 3 were infected with *Babesia ovis* and *Theileria ovis*. *Babesia motasi*, *Babesia crassa* and *Theileria lestoquardi* were not detected.

Key words: *Babesia*, Goat, Prevalance, RLB, *Theileria*

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. BABESİOSİS TANIMI VE TARİHÇESİ	4
2.2. <i>BABESİA</i> TÜRLERİNİN SINIFLANDIRMADAKİ YERİ	5
2.3. <i>BABESİA</i> TÜRLERİNİN GELİŞME ŞEKİLLERİ	5
2.3.1. Omurgalı Konaktaki Gelişme	5
2.3.2. Vektör Kenedeki Gelişme	6
2.4. KEÇİLERDE BABESİOSİS	9
2.5. TÜRKİYE'DE YAYILIŞI	9
2.6. THEİLERİOSİS TANIMI VE TARİHÇESİ	11
2.7. <i>THEİLERİA</i> TÜRLERİNİN SINIFLANDIRMADAKİ YERİ	11
2.8. <i>THEİLERİA</i> TÜRLERİNİN GELİŞME ŞEKİLLERİ	12
2.8.1. Omurgalı Konaktaki Gelişme	12
2.8.2. Vektör Kenedeki Gelişme	13
2.9. KEÇİLERDE THEİLERİOSİS	16
2.10. TÜRKİYE'DE THEİLERİOSİS	17
2.11. BABESİOSİS VE THEİLERİOSİSİN EPİDEMİYOLOJİSİ	18
2.12. BABESİOSİS VE THEİLERİOSİSİN TEŞHİSİ	18
2.12.1. Parazitin Tespiti	19
2.12.1.1. Mikroskopik Muayene	19
2.12.1.1.1. İnce Yayma Froti Yöntemi	19
2.12.1.1.2. Kalın Damla Yöntemi	20

	<u>Sayfa No</u>
2.12.2. Nükleotid Tespiti	20
2.12.2.1. DNA Amplifikasyon Teknikleri	21
2.12.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	21
2.12.2.3. Reverse Line Blotting (RLB).....	22
2.12.3. Serolojik Teşhis	22
2.13. BABESİOSİS VE THEİLERİOSİSİN TEDAVİSİ.....	23
2.14. BABESİOSİS VE THEİLERİOSİSDEN KORUNMA	24
2.14.1. Vektör Kenelerle Mücadele	24
2.14.2. Suni Preimmunizasyon Kazandırılması	25
2.14.3. Aşılama	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. SAHA ÇALIŞMALARI.....	27
3.2. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI.....	28
3.2.1. Kan Frotilerinin Yapımı ve Muayenesi	29
3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	29
3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu.....	29
3.2.2.2. PZR Yapılışı.....	29
3.2.2.3. Pozitif ve Negatif Kontrol.....	31
3.2.3. Reverse Line Blotting (RLB).....	31
3.2.3.1. RLB Membranın Hazırlanması.....	31
3.2.3.2. RLB Hibridizasyon.....	32
3.2.3.3 RLB' nin Duyarlılığının Saptanması.....	33
3.2.4. PZR ve RLB Testlerinde Kullanılan Gereçler	33
3.2.5. PZR ve RLB Testlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	33
3.2.6. PZR ve RLB testlerinde Kullanılan Primerler ve Problar	34
3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER	35
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	42
6. KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 3.1. Örnekleme alınan keçilerin belde ve köylere göre dağılımı	28
Tablo 3.2. PZR’de kullanılan Primerler	35
Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan problemlerin 5’ - 3’ dizilişi	35
Tablo 4.1. <i>Babesia</i> ve <i>Theileria</i> türlerinin mikroskopik prevalansı	37
Tablo 4.2. RLB ile saptanan <i>Babesia</i> ve <i>Theileria</i> türlerinin araştırma merkezlerine göre dağılımı	38
Tablo 4.3. RLB testi ile tespit edilen türlerin prevalansı.....	39
Tablo 4.4. Saptanan pozitifliklerin yaş ve cinsiyete göre dağılımı.....	39
Tablo 4.5. <i>Babesia</i> ve <i>Theileria</i> enfeksiyonlarının yayılışına yaşın etkisi.....	40
Tablo 4.6. <i>Babesia</i> ve <i>Theileria</i> enfeksiyonlarının yayılışına cinsiyetin etkisi	41
Şekil 2.1. <i>Babesia</i> spp.’nin hayat siklusu.....	8
Şekil 2.2. <i>Theileria</i> spp.’nin hayat siklusu.....	15
Şekil 4.1. Mikroskopik prevalansın türlere göre yüzdesel dağılımı	37
Şekil 4.2. Moleküler prevalansın türlere göre yüzdesel dağılımı	39
Şekil 4.3. <i>Babesia</i> ve <i>Theileria</i> enfeksiyonlarının yaş gruplarına göre yüzdesel dağılımı	40
Şekil 4.4. <i>Babesia</i> ve <i>Theileria</i> enfeksiyonlarının cinsiyete göre yüzdesel dağılımı.....	41

KISALTMALAR

A	: Adenine
bp	: Baz çifti
C	: Cytosine
°C	: Derece Celcius
cDNA	: Complemeter deoksiribonükleik asit
CFT	: Komplement Fiksasyon Test
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Fg	: Figogram
G	: Guanine
IFAT	: Indirect Fluorescent Antibody Test
IgG	: İmmunglobulin G
Kb	: Kilobaz
Ng	: Nanogram
NO	: Nitrit oksit
Pg	: Pikogram
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RLB	: Reverse Line Blotting
RNA	: Ribonükleik asit
rRNA	: Ribozomal RNA
ssrRNA	: Small subunit ribozomal RNA
TBE	: Tris Borat EDTA
U	: Uracil

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Türkiye’de keçi yetiştiriciliği değişik ekolojik ve sosyoekonomik koşullara bağlı olarak farklı sistemler halinde yapılmaktadır. Keçiler, diğer çiftlik hayvanlarınca değerlendirilmeyen dağlık bölge meralarında otlayabilmeleri, kaba yemleri daha iyi değerlendirmeleri, et, süt, deri, kıl, tiftik, bağırsak, gübre gibi çok çeşitli amaçlarla kullanılabilen ürünlere sahip olmaları, basit ve düşük maliyetli barınaklarda yetiştirilebilmeleri ve ucuz olmaları sebebiyle sürü kurma kolaylığı sağlayabildikleri için dağlık ve kırsal bölgelerde yaşayan insanlar için önemli bir geçim kaynağı olmuştur.

Keçilerden elde edilen ürünlere karşı talep birçok ülkede üst seviyelerdeyken Türkiye’de bazı bölgelerde bu ürünler bilinmekte ve severek tüketilmekte bazı bölgelerde ise tam tersine ya hiç tanınmamakta ya da tanınsa bile insanlar bu ürünleri tercih etmemektedir. Oysa bu hayvan türünden elde edilen ürünleri özellikle kişi başına hayvansal kaynaklı besin maddelerinin tüketiminin çok düşük olduğu Türkiye’de daha güncel hale getirmek ve tüketimini arttırmak ülke hayvancılığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Türkiye İstatistik Kurumunun 2007 ve 2008 yılı hayvan sayıları ve hayvansal ürünler bazındaki verilerine göre; 2007 yılında Türkiye'deki keçi sayısı 6.539.561 adet iken 2008 yılında 5.593.561 adete gerilemiştir. Keçi sayısının toplam hayvan varlığı içerisindeki payı ise %14,48'den %13,63'e düşmüştür. Hayvansal ürünler bazında da durum farklı değildir. Keçi sütü 2007 yılı verilerine göre %1,93'lük oranla 237.487 ton üretilirken, 2008'de %1,71'lik oranla 209.570 tona gerilemiştir. Keçi eti 2007 yılını 24.136 tonluk üretimle kapatırken, 2008 yılı sonu itibariyle 13.753 tonluk üretime düşmüştür. Genetik ve çevre iyileştirmelerinin özellikle kapsam yönünden sınırlı kalması, hayvan hastalıklarıyla özgün ve etkili bir mücadelenin yapılamaması günümüzde böyle bir tablonun ortaya çıkmasına neden olmuştur.

Hayvan hastalıkları içerisinde kene kaynaklı kan protozoonlarının sebep olduğu babesiosis ve theileriosis koyun ve keçi yetiştiriciliği yapılan yörelerde önemini korumakta, hastalığa yakalanan hayvanlarda verim kayıplarına ve ölümlere sebebiyet vermektedir. Kene kaynaklı hastalıkların kontrolünde etkenin ve vektör kenenin yayılış gösterdikleri bölgenin tespiti, bu bölgelerde etken ve vektörlerine yönelik yapılacak mücadele ve korunma çalışmaları önem taşımaktadır. Bu mücadele yöntemlerinin belirlenmesinde gerekli epidemiyolojik verilerin elde edilmesi için kullanılan serolojik testlerin yanında, vektör keneler için potansiyel enfeksiyon kaynağı olan taşıyıcı hayvanlarda etkenlerin bizzat kendisinin tespiti de önem taşımaktadır. Taşıyıcı hayvanların ortaya konmasında, son yıllarda gelişen moleküler biyolojik teşhis yöntemlerinin kullanılması gelecekte bu tür hastalıkların ülkedeki durumu ve buna karşı alınacak önlemlerin belirlenmesinde büyük yarar sağlayacaktır.

Parazitlerin teşhisinde gerek mikroskopik gerekse serolojik yöntemlerde karşılaşılan olumsuzluklar moleküler biyolojik çalışmalara paralel olarak gelişen Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniği ile giderilmeye çalışılmıştır. Bu teknik ile özellikle taşıyıcı hayvanlarda *Babesia* ve *Theileria* türlerini de içine alan birçok patojen etkenin duyarlı ve özgül şekilde teşhis edilmesine olanak sağlanmıştır. Ancak türe özgü PZR kullanılması durumunda, her hastalık etkeni için ayrı testin yapılması gerektiğinden bu durum hem zaman hem de ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu kayıpların giderilmesi amacıyla bir defada birden fazla parazit türünün teşhisine olanak sağlayan ve aynı zamanda PZR' ye göre daha duyarlı olan Reverse Line Blotting (RLB) yöntemi geliştirilmiştir. Bu test soya özgü genel primerler ile elde edilen PZR ürünlerinin bir

membranda aynı sıralara bağlanmış özgün proplara hibridizasyonu esasına dayanmaktadır.

Günümüzde her alanda kullanımı gittikçe artan RLB testi, parazitoloji alanında hayvanlarda bulunan bütün kene kökenli hastalıkların teşhisinde standart bir metot haline gelmiştir.

Bu çalışma, Kahramanmaraş merkez ilçe, bağlı köy ve beldelerinde meraya çıkan, klinik belirti göstermeyen, sağlıklı keçilerdeki *Babesia* ve *Theileria* türlerinin RLB ve mikroskopik muayene ile mikroskopik ve moleküler prevalansını tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BABESİOSİS TANIMI VE TARİHÇESİ

Babesiosis, *Ixodidae* ailesindeki vektör kenelerle transstadial ve transovarial olarak nakledilen, evcil ve yabani hayvanlarda yaygın olarak görülen zoonotik karakterli protozoer bir kan hastalığıdır (1). Hastalık tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olarak görülür ve piroplasmosis, tick fever, red water, texas fever, splenic fever, olarak da isimlendirilir. Hastalığa sebep olan 112 tür tanımlanmış ve türlerin coğrafik dağılımının vektör kenelerin yayılışlarıyla yakından ilgili olduğu bildirilmiştir (2,3).

Babesiosisle ilgili ilk bilgiler Romanya'da 1888'de Babes tarafından ortaya konulmuştur. Babes sığır eritrositleri içerisinde bir takım mikroorganizmalar keşfetmiş, bunların sığır hemoglobininürisi ile bağlantılı olduğunu ileri sürmüştü ve aynı mikroorganizmaları koyun eritrositlerinde de gözlemlemiştir (1, 3). 1893 yılında ABD'de Smith ve Kilborne "texas fever" olarak adlandırılan hastalıkta eritrositler içindeki etkeni *Pyrosoma bigenium* olarak isimlendirmişler ve bunun bir kene tarafından nakledildiğini de keşfetmişlerdir. Bu olgu bir protozoon parazitin, bir artropod tarafından nakledilmesiyle ilgili ilk keşiftir (3).

2.2. *BABESİA* TÜRLERİNİN SINIFLANDIRMADAKİ YERİ

Babesia türlerinin sınıflandırmadaki yeri aşağıda verildiği gibi belirlenmiştir (4).

Biota (Canlılar)

Domain: *Eukaryota* Chatton,1925

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

Subkingdom: *Biciliolata*

Infrakingdom: *Alveolata* Cavalier-Smith, 1991

Phylum: *Myozoa* Cavalier-Smith ve Chao, 2004

Subphylum: *Apicomplexa* Levine, 1970

Class: *Aconoidasida* Mehlhorn, Peters ve Haberkorn, 1980

Order: *Piroplasmorida* Wenyon, 1926

Family: *Babesiidae* Poche, 1913

Genus: *Babesia* Starcovici, 1893

Species: *B. ovis*, *B. motasi*, *B. crassa*

2.3. *BABESİA* TÜRLERİNİN GELİŞME ŞEKİLLERİ

2.3.1. Omurgalı Konaktaki Gelişme

Babesiosis'e karşı duyarlı hayvana keneler tarafından kan emme esnasında verilen küçük ve uzamış şeklindeki sporozoitler, ön kısımlarında polar halka, mikronemler ve roptriden oluşan apikal komplekse sahiptirler. Hücre dışı serbest merozoitler ve sporozoitler, plazma membranına yapışık fibrillerden meydana gelen, fuzzy coat denen yüzey örtüsüyle kaplıdır. Kenenin kan emmesi ile omurgalı konağa verilen bu parazitler endositosisle konak hücre olarak kullandıkları eritrositlerin içine çekilerek yutulurlar. *Babesia* sporozoitlerinin yüzeyinde bulunan ve ilk yapışma olayında büyük önem taşıyan fuzzy-coat, invaginasyon sırasında giriş kısmında çıkarılır ve geride bırakılır. Parazit invagine olan membranın içine girdikten sonra, membranın kenarları paraziter vakouülü meydana getirmek üzere birleşir. Böylece sporozoit, dışta konak hücreye, içte ise parazite ait olmak üzere iki katlı membranla sarılmış olur. Parazit eritrosite girdikten sonra bu parazitofor membran kalkar ve plazma membranı direk eritrositin sitoplazması

ile karşı karşıya kalır. Bundan sonraki safhalarda parazit tek katlı membranla yaşamını devam ettirir. Serbest merozoitlerin hücreye girişinde de aynı olaylar şekillenir (5,6).

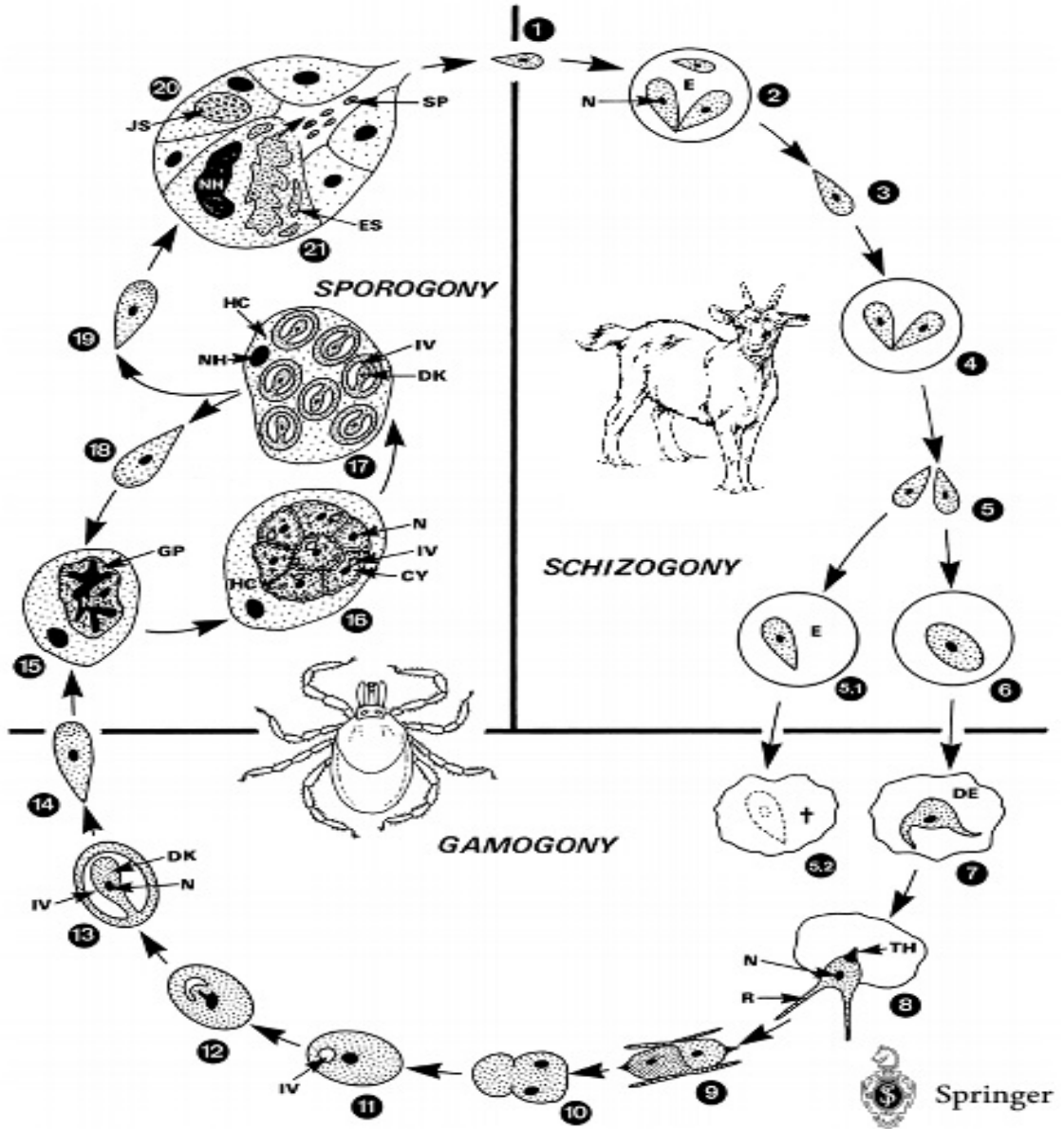
Sporozoit eritrosite girdikten sonra trofozoite dönüşerek yuvarlak bir şekil alır. Bu form da parazitin sitoplazması ribozomlarla doludur ve endoplazmik retikulum belirgindir. Çekirdeğin etrafında yoğunlaşmış, ilkel golgi aygıtı kabul edilen veziküller vardır. Trofozoitin gelişmeye devam etmesi ile sitoplazmada değişimler başlar ve yeni organeller meydana gelir. Golgi aygıtından köken alan, bu aygıt ile ilişki halinde olan mikronemler ve roptiriler şekillenir. İki katlı bir membranla çevrilmiş olan çekirdekte nükleoplazma homojen ve az yoğun bir yapıya sahiptir. Çekirdeğin homojen yapısı trofozoitin tüm gelişimi boyunca, üreme safhalarında ve merozoitinde de aynıdır. Üremeden önce çekirdekte bölünme olmaz. Bölünmenin son safhasına kadar çekirdeğin bir parçası ana vücuda bağlıdır. Trofozoitin olgunlaşması ile sitoplazmada meydana gelen değişimler sonucunda mikronemler, roptiriler, mikrotubuller, polar halka ve konoid oluşur. Merozoitleri oluşturmak üzere olgun trofozoitin uç kısmında tomurcuk şeklinde bir çıkıntı meydana gelerek, bölünme başlar. Çekirdeğin yapısı da değişerek yeni oluşan merozoitlere doğru uzantı yapar. Şizogoniye benzer durumda bölünme şekillenmesine karşın, şizogonide çekirdeğin bölünmesi, sitoplazmada ki değişimler bölünmeden önce gerçekleşir. Bu bölünme sırasında parazit yuvarlak, oval formdan amoeboid ve armut formlarına kadar değişen şekillerde gözlenir. Çoğalma sonucunda oluşan merozoitler birbirinden ayrılır ve eritrosit membranını parçalayıp dışarı çıkarak yeni eritrositleri enfekte ederler. Merozoitler, eritrositlere başarılı bir şekilde girdikten sonra, gelişir ve çoğalırlar. Bu eşeysiz safha sınırsız şekilde devam eder ve hayvanlar bazen ömür boyu enfekte kalabilirler. Bu olay sırasında konak hücreler de etkilenir ve morfolojik değişimler şekillenir (5, 6).

2.3.2. Vektör Kenedeki Gelişme

Babesia etkenlerinin keneler aracılığı ile naklinin 1893 yılında saptanması parazitolojide önemli bir dönüm noktası olmuştur. *B. ovis*; *Rhipicephalus bursa*, *R. turanicus*, *Hyolamma excavatum*, *Ixodes persulcatus* ve *R. evertsi*; *B. motasi* ise *R. bursa*, *Haemaphysalis punctata*, *Hae. parva*, *Dermacentor silvarum* ve *Ixodes ricinus* keneleri tarafından nakledilmektedir. *B. crassa*'nın vektörü ise henüz bilinmemektedir (7,8). Türkiye'de bu türlerden, *R. bursa*, *R. turanicus* ve *H. excavatum*, *Hae. punctata*, *Hae. parva* ve *I. ricinus* türleri bulunmaktadır (9).

Yukarıda belirtilen kenelerin, enfekte hayvanlardan kan emmesi esnasında, eritrositler içindeki etkenleri almasıyla vektördeki gelişmeler başlar. Eritrositlerdeki parazitler trofozoitlere dönüşerek yeni merozoitleri meydana getirirken, özellikle ovoid ve yuvarlak formlar, kenenin bağırsağında beslenmesinden iki gün sonra sitostom, mikrotubuller, ok benzeri yapılar ve uzun bir kuyruk kazanarak gametleri meydana getirirler. Beslenmeden 2-4 gün sonra ışınsal cisimlerin ikisi, hücre membranı tek olan zigotu oluşturmak için temas noktalarından kaynaşırlar. Zigotu meydana getiren gametler ışık mikroskobunda izogamet gibi görünmesine rağmen, farklı elektron yoğunluğu olması sebebiyle anizogamet olarak kabul edilir (5,6).

Bağırsakta oluşan zigottan, üç katlı membranla örtülmüş, ön ucu şemsiye şeklinde olan kinetler gelişir. Bağırsağı delen kinetler, hemolenf aracılığı ile vektör kenenin hematositleri, kas fibrilleri, malpighi tubul hücreleri ve dişi kenelerde ovaryum hücrelerini bulunduran çeşitli dokulara girerler. Bu dokularda geçirdikleri eşeysiz çoğalma sonucunda yeni kinetler meydana gelir. Bu döngü kene ölünceye kadar sınırsız olarak devam eder. Transovarial nakil sebebiyle yumurtalar ve bu yumurtalardan gelişecek yeni nesiller de enfekte olurlar. Benzer bölünmeler embriyoda, beslenen, doymuş veya gömlek değiştiren larva, nimf ve ergin kenelerin çeşitli organlarında da meydana gelir. Tükürük bezi hücrelerine penetasyonla giren kinetler, karakteristik yapılarını kaybederler ve polimorfik sporontlara dönüşmeye başlarlar. Tüm türlerde, sporontun çoğul bölünmesi ile sporozoitlerin oluşumu, sadece enfekte kene, omurgalı bir konağa tutunduğunda başlar ve sporozoit kan emme esnasında omurgalı konağa verilir. Böylece yaşam döngüsü tamamlanmış olur (5, 6, 10).



Şekil 2.1. *Babesia* spp.'nin hayat siklusu (11). 1 Beslenen kenenin tükürüğündeki sporozoit. 2-5 Omurgalı konağın eritrositlerinde aseksüel çoğalma ile oluşan merozoitler (5) diğer eritrosite girişi. Merozoitler kene tarafından alındığında (5.1) bunlar mide içinde sindirilir (5.2). 6 Bazı merozoitler ovoid gamontları oluştururlar. 7,8 Kenenin bağırsak hücrelerine girdikten sonra ovoid gamontlarda 10 numarada görüldüğü gibi çıkıntılar oluşur. 11-14 Vakuol içinde tek bir zigot oluşur. Kinetler bağırsak hücrelerinden ayrılır ve vektör kenenin çeşitli organlarına (yumurtayı da içeren) girerler. 15-18 Çok sayıda kinetin oluşumu (sporokinetler). Bu olay tekrarlanır (15-18) ve kenenin yumurtalarında da gerçekleşir. Enfeksiyon kenenin sonraki jenerasyonlarına aktarılır. (ör: transovarial nakil). 19-21 Bazı kinetler tükürük bezi hücrelerine penetre olur, çok çekirdekli sporontları (YS, ES) oluşturur (hipertrofik konak hücrelerinin içinde), sonuç olarak çok sayıda küçük sporozoitler oluşur (SP) ve beslenme esnasında omurgalı konağa enjekte edilir (CY, DE, sindirilmiş eritrosit; DK, gelişen kinet; , eritrosit; ES, genişlemiş sporont; GP, gelişen parazit (polimorfik safha); HC, konak hücre çekirdeği; IV, iç vakuol; N, çekirdek; NH, konak hücre çekirdeği; R, ışınsal çıkıntılar; SP, T, diken benzeri apikal yapı; YS, genç sporont).

2.4. KEÇİLERDE BABESİOSİS

Keçilerde babesiosis; *Babesia ovis*, *B. motasi* ve *B. crassa* tarafından meydana getirilen perakut, akut, subakut ve kronik seyirli bir hastalıktır (7). *Babesia ovis* özellikle koyunlarda oldukça patojendir ve saha enfeksiyonlarında %30-50 oranında ölümlere yol açar. *Babesia motasi*'nin patojenitesi fazla yüksek olmayıp daha az virulent iken *B. crassa* küçük ruminantlar için apatojendir (12).

B. ovis; Avrupa, Yakın ve Ortadoğu, Orta Asya, Kuzey Batı ve Güney Afrika, Kuzey, Orta ve Güney Amerika'da, *B. motasi*; Avrupa, Kafkas Cumhuriyetleri, Hindistan, Vietnam, Kuzey ve Batı Afrika'da, *B. crassa*; İran da görülmektedir (7).

Babesia ovis; küçük *Babesia* türlerindedir (1-2,5 µm). Parazitlerin çoğu yuvarlaktır ve genellikle eritrositlerin kenar kısımlarına yerleşir. Daha az görülen çift armut şeklindeki merozoitlerde aradaki açığı geniştir. Merozoitlerde, konoid, mikroporlar ve mitokondri yoktur ancak mitokondri benzeri veziküller vardır. Beş veya daha fazla roptri, ön ve arka polar halka mevcuttur. Subpelliküler mikrotubüller yoktur (8).

Babesia motasi; büyük *Babesia* türlerindedir. Merozoitleri, 2,5-4 x 2 µm büyüklüğündedir. Çift armut formların arasındaki açığı dardır (8).

Babesia crassa; büyük *Babesia* türlerindedir. Merozoitleri 2-3 µm uzunluğundadır. Bu türde, genellikle bir eritrosit içinde 4 merozoit bulunur (8).

2.5. TÜRKİYE' DE YAYILIŞI

Türkiye'de koyun babesiosisi ile ilgili ilk bilgiler 1930'lu yıllara dayanır (13-15). Günümüze kadar yapılan mikroskopik, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda *B. ovis* ve *B. motasi*'nin varlığı ortaya konmuştur. (16-18). *B. crassa*'nın varlığı ile ilgili bir bulguya rastlanmamıştır. *Babesia ovis* koyun ve keçilerde yaygın olarak bulunurken, *B. motasi*'nin Türkiye'de Van yöresinde koyunlarda varlığı ileri sürülmüştür (18).

Babesia ovis; mikroskopik olarak Doğu Anadolu'da %0,85-30,6 (18-26); İç Anadolu Bölgesi'nde %0,41-62,5 (17, 27-33), Karadeniz Bölgesi'nde %35,16-67,3 (24, 34, 35); Marmara bölgesinde %0-40 (36-38); Güney Doğu Anadolu'da %1-1,82 (22, 39, 40) oranlarında bildirilmiştir.

Keçilerin de dahil olduğu az sayıdaki çalışmalarda, Çankırı yöresinde 128 koyun, 66 keçi üzerine yapılan mikroskobik kan muayenesinde, koyunlarda % 28,36, keçilerde % 12,18 *B. ovis* tespit edilmiştir (33).

Kayseri yöresinde, mikroskobik muayene ile 192 koyunun 34'ünde, 47 keçinin 3'ünde olmak üzere toplam 239 küçük ruminantın 37'inde *B. ovis* tespit edilmiş olup prevalansı koyunlarda % 17.70 keçilerde ise % 6.38 bulunmuş *Babesia motasi* ise tespit edilememiştir (16).

Niğde yöresinde *Babesia ovis*'in mikroskobik prevalansı koyunlarda %12,72, keçilerde %2,17 olarak saptanmıştır (41).

Kayseri'nin Yeşilhisar ilçesinde yapılan bir çalışmada keçilerde *B. ovis*'in mikroskobik prevalansı %5 olarak tespit edilmiştir (42).

Türkiye'de *Babesia ovis*'in serolojik teşhisi ilk olarak Özkoç (37) tarafından IFAT ile; Düzgün ve ark. (43) tarafından ELISA ile yapılmıştır. *Babesia ovis* serolojik olarak İç Anadolu Bölgesi'nde %23,63-91,02 (24, 29, 30-32, 44, 45), Karadeniz Bölgesi'nde %71,6-80 (24, 34, 35); Doğu Anadolu Bölgesi'nde %45-60,3 (21, 23- 26), Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde %41,02 (39), Marmara Bölgesi'nde %46,1 (38) ve Ege Bölgesi'nde %51,96-80,2 (24, 45) olarak saptanmıştır.

Niğde yöresinde *Babesia ovis*'in prevalansı serolojik olarak İFA testi ile %23,63, keçilerde %34,78 olarak saptanmıştır (41)

Moleküler olarak *B. ovis*'in prevalansı; Kayseri'nin Yeşilhisar ilçesinde koyunlarda %4, keçilerde %3 (42), Kayseri yöresinde koyunlarda %0,9 (46), Orta Anadolu'da koyunlarda %2,9, keçilerde %2 toplamda küçük ruminatlarda %2,6 (47) ve Doğu Anadolu'da koyunlarda %5,43 (48), Doğu ve Güney Doğu Anadolu'da küçük ruminantlarda %21,42 ve %8,25 (40, 49), Doğu Anadolu'da kenelerde %16,37, küçük ruminantlarda %6,66 (50) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca küçük ruminantlarda *Babesia* türlerinin PCR ve RLB ile karşılaştırmalı tanısı yapılmıştır (51).

2.6. THEİLERİOSİS TANIMI VE TARİHÇESİ

Theileriosis, *Apicomplexa* subphylumunda *Theileria* türlerinin sebep olduğu protozoer bir kan hastalığıdır. *Ixodidae* ailesindeki keneler vasıtasıyla transstadial olarak taşınan parazit evcil ve yabani hayvanlarda hastalığa sebebiyet vermektedir (52). Theileriosis tropik iklimin hakim olduğu geniş bir coğrafyada yaygın olarak görülmektedir (7).

Dschunkowsky ve Lush tarafından ilk defa 1903 yılında Kafkasya sığırlarında tespit edilen hastalığa Tropikal Piroplasmose adı verilmiştir. Theiler 1904 yılında Afrika sığırlarında *Theileria parva*' yı, 1906 yılında ise *Theileria mutans*' ı bulmuştur. 1924 yılında Sergent ve arkadaşları, 1930 yılında Yakimoff ve Dektereff, theileriosis ile ilgili yeni bilgiler ortaya koymuş ve buldukları parazitlerin *Hyalomma* soyuna ait keneler vasıtasıyla nakledildiğini bildirmişlerdir (53).

2.7. THEİLERİA TÜRLERİNİN SINIFLANDIRMADAKİ YERİ

Theileria türlerinin sınıflandırmadaki yeri aşağıdaki gibi belirlenmiştir (4).

Biota (Canlılar)

Domain: *Eukaryota* Chatton,1925

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

Subkingdom: *Biciliata*

İnfrakingdom: *Alveolata* Cavalier-Smith, 1991

Phylum: *Myxozoa* Cavalier-Smith ve Chao, 2004

Subphylum: *Apicomplexa* Levine, 1970

Class: *Aconoidasida* Mehlhorn, Peters ve Haberkorn, 1980

Order: *Piroplasmorida* Wenyon, 1926

Family: *Theileriidae* du Toit, 1918

Genus: *Theileria* Bettencourt, 1907

Species: *T. ovis* (syn. *T. recondita*), *T. lestoquardi* (syn. *T. hirci*), *T. separata*, *T. luwenshuni*, *T. uilenbergi*

2.8. THEILERIA TÜRLERİNİN GELİŞME ŞEKİLLERİ

2.8.1. Omurgalı Konaktaki Gelişme

Taşıyıcı kenenin tükürük bezi içerisindeki sporozoitler kenenin kan emmesi esnasında theileriosis duyarlı bir hayvana geçerek enfeksiyona sebep olurlar. Kenenin konakçıya yapıştığı yerdeki bölgesel lenf yumrusunda inkübasyon süresinin beşinci gününden itibaren sporozoitlere rastlanır (54 , 55)

Sporozoitlerin lenfoit hücrelere girmesiyle parazitin biyolojisinde önemli bir safha başlar. Sporozoitin dış yüzeyinde bulunan bağlar lenfosit membranındaki reseptörlere bağlanır. Birkaç dakika bu şekilde kalan sporozoit pasif endositosis yoluyla lenfosit içine alınır. Bu esnada sporozoitte gerek metabolik gerekse hareket yönünden hiçbir faaliyet görülmez (56). Lenfositin içine alınan sporozoitin etrafı üç katlı bir membranla çevrilir. En dıştaki membran konakçı hücreye ait lenfosit membranıdır. Lenfositler normal durumda az sayıda lizozomları ihtiva eder, bazen ise hiç bulunmaz. Fakat sporozoitlerin lenfositte girmesinden sonra sindirim enzimleri ihtiva eden lizozomlar artarak sporozoitin membranı etrafında toplanır. Lizozomlar da bulunan endositosis vakuolünün erimesi ile ihtiva ettikleri enzimler serbest kalırlar. Bu işlem sporozoitin hücreye girişi esnasında olduğu için parazite hiçbir zarar vermez, sadece sporozoitin etrafındaki konakçı hücreye ait olan membranı eritir (56).

Lenfositler içerisinde sporozoitler şizogoni yoluyla çoğalarak makroşizontları meydana getirirler. Lenfoblastoid hücrelerde meydana gelen makroşizontlar 3 ila 15 arasında çekirdek ihtiva ederler (57). Makroşizontlar konakçı hücre lenfositlerini mitoz yoluyla bölünmesini teşvik ederler, bu esnada kendileri de bölünerek yeni lenfositlere dağılırlar ve mikroşizontları oluştururlar (57).

Bazı araştırmacılar merozoitlerin oluşumunu iki yolla açıklamaktadırlar. Birinci tarzda yuvarlak şizontun çekirdekleri hücrenin periferinde yer alırlar ve her bir çekirdek ikiye bölünerek çoğalır. En son bölünmede rozet görünümünde merozoitler meydana gelir. İkinci tarzda ise küçük ebattaki bir şizonta ait tek bir çekirdek aynı anda birçok parçaya bölünmesi ile birçok merozoit meydana gelir. Aynı araştırmacılar ilk çekirdek bölünmesi esnasında görülen şizontlara makroşizontlar, merozoitleri şekillendiren son dönem şizontlara ise mikroşizont adını vermişlerdir (58).

Parazit eritrosit içine girdiği and”an itibaren etrafında iki katlı bir membran bulunur. Bu membranın dış katının invaginasyon sonucunda eritrositin zarı tarafından oluşturulduğu bildirilmiştir. Kısa bir süre sonra ise eritrosit içindeki parazitin tek bir membranla çevrilmiş olduğu gözlenir (59).

Schein ve arkadaşlarına göre eritrosit içindeki virgül formatındaki parazit uzunlamasına ikiye bölünür. Bu safhada ilk olarak görülen çekirdek bölünmesi yanında çekirdek dışında mikrotubul benzeri yapılar oluşur. Çekirdek bölünmesini sitoplazma bölünmesi takip eder. Böylece bir hücre bölünmesi söz konusudur. Parazitin hızla bölünmesi esnasında “Y” benzeri bir şekil aldığı da bildirilmiştir (60).

2.8.2. Vektör Kenedeki Gelişme

Theileria lestoquardi'nin, *Hyalomma anatolicum* ve *Rhipicephalus* spp. ile deneysel olarak nakledildiği bildirilmiştir (61,62). Bunun yanında, *R. sanguineus*, *R. evertsi*, *H. impeltatum*, *Haemaphysalis rufipes* gibi kene türleri ile nakledilebileceği belirtilmiştir (63). *Theileria ovis*'in vektörü olarak değişik bölgelerde farklı kene türleri rapor edilmiştir. Bu türler arasında, *R. evertsi* (64), *R. bursa* (65), *R. haemaphysaloides* (66), *H. anatolicum* (67), *Hae. punctata* (68), *Dermacentor sylvarum*, *Hae. sulcata* ve *Ornithodoros* bulunmaktadır (8, 10). Türkiye'de *T. ovis* ile enfekte bir koyun üzerinde beslenen aç olgun *H. anatolicum*'un tükürük bezi asini hücrelerinde Methyle Green Pyronin boyama metodu ile *Theileria* sporoblastları (69), sahadaki koyunlar üzerinden toplanan *R. bursa*'nın tükürük bezi asini hücrelerinde ise PCR ile *T. ovis*'in sporozoitleri tespit edilmiştir (70). *Theileria separata*'nın vektörlüğünü *R. evertsi*'nin yaptığı bildirilmiştir (71). *Theileria luwenshuni* ve *T. uilenbergi*'nin vektörlüğünü ise *Haemaphysalis quinhainensis*'in yaptığı bildirilmiştir (72).

Yukarıdaki kene türlerinin hasta hayvanlardan kan emmesiyle *Theileria* etkenleri eritrositler içerisinde kenenin bağırsağına alınır, kısa bir süre sonra bu eritrositler eriyip parçalanır ve içerisindeki merozoitler serbest hale gelir. Merozoitler kenenin bağırsağında ilk olarak virgül formunda görülür ama kısa sürede kaybolan bu formun yerine yuvarlak ve oval merozoit formları geçer. Bu merozoitlerin farklılaşması ile mikro ve makro gametler oluşur(60).

Mikrogamet formunun kene doyduktan 2 günle 4 gün arasında kenenin bağırsağında iplik şeklinde gözlemlendiği bildirilmiştir. Çekirdeğin bulunduğu orta kısım diğer kısımlara nazaran daha genişlemiştir. Epitel hücreler içerisinde bulunan halka ve

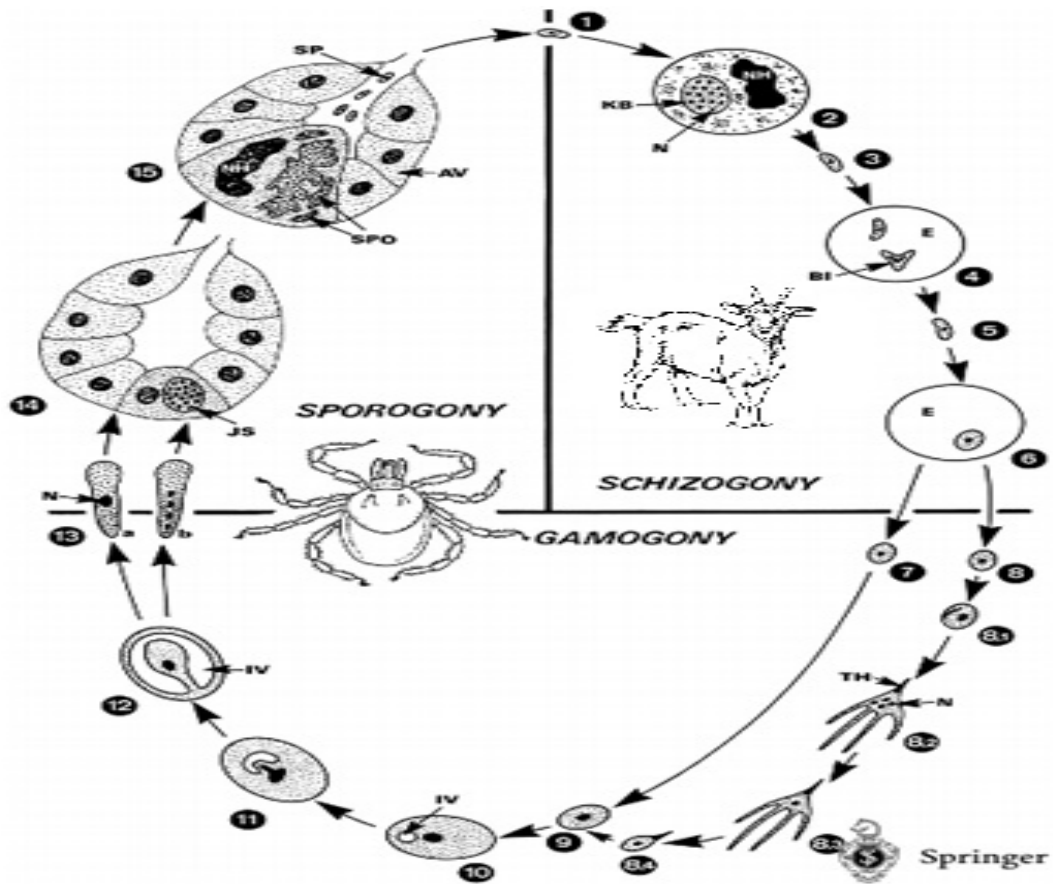
yuvarlak formdaki merozoitler kene doyduktan 6 ila 10 gün sonra belirgin bir morfolojik değişim göstererek makrogametleri oluştururlar. Bu parazit formunda çekirdekle etrafındaki plazma arasında koyu bir sınır şeklinde zar fark edilir. Bu halka formları düzenli ve devamlı olarak büyürler (73).

Kenenin doymasından sonraki 2. ve 5. günler arasında bağırsakta görülen parazitlerin büyük bir kısmı bağırsak epitelyum hücreleri tarafından fagosite edilir ve besin granülü olarak depo edilir (74). Döllenmiş makrogametlere kenenin bağırsak hücreleri içerisinde oval veya yuvarlak bir formda rastlanır. Zigotun ebadının büyümesi ile içinde hareketli bir safha gerçekleşir ve buna kinet adı verilir. Kinetlerin bağırsak duvarından haemocole göç ettiği bildirilmiştir. Kene doyduktan sonraki 12. güne kadar etrafında tek bir membran bulunan zigotun bu günden itibaren etrafında ikinci bir membran oluşur ki buna zigot membranı denir. Bu membran üzerinde mikroporlar görülmez. Çekirdeği hücrenin merkezinde yer alır, küresel görünümündedir, çekirdek etrafında bir çekirdek zarı bulunur. Nükleoplazmada kromozomal elementler görülmediğinden homojen bir görünüştedir. Bu safhada sitoplazma içerisinde çok sayıda vakuol bulunur. Bunların etrafı membranlarla çevrilidir (59).

Kenenin hemolenfide bulunan kinetin büyüklüğü 20 mikron, genişliği de 4-5 mikrondur. Etrafını dışta elementer bir membran sınırlandırır, içteki tabakada 15-21 nm büyüklüğünde mikropora benzeyen aralıklar bulunur. Hücrenin apikal kısmının neredeyse 1/3'ü mikronemlerle doludur ve rhoptriler bulunmaz. Çekirdek merkezde yer alır. Çekirdeğin önünde apikal kutup bölgesinde her zaman görülen helezonik yapı mitokondri benzeri çift membranlı organeller bulunur. Kinetin arka kısmında iyi gelişmiş endoplazmik retikulum gözlemlenir ve kinetin hemolenf içindeki dönemde hiçbir çoğalma safhası göstermeden geliştiği bildirilmiştir (59). Kinetler aktif hareketleri ile tükürük bezinin asini hücrelerine girerler. Önce küresel bir form olan parazitte, çekirdek bölünmesinin ardından sporogony safhası başlar (75).

Bazı araştırıcılara göre kenenin tükürük bezinde üç formda bulunduğunu bildirmişlerdir. İlk görülen enfektif kabiliyeti olmayan genç formdur. Bunun sitoplazması içinde granülü ribozomlar gelişerek çekirdeğe dahil olur. Oval şeklindeki çekirdek materyali artarak hücrenin kenarına yakın bir yerde bulunur. İkinci formu teşkil eden ara formudur. Bu formda parazitin çekirdeği gelişerek bütün hücreyi doldurur ve sitoplazmayı bir bant şeklinde sarar. Bu dönemde çekirdeğin gelişmesi sona erer.

Nihayet çekirdek materyali arasında mitokondriyumlar görülür. Çekirdek birçok parçaya ayrılarak etrafında biraz sitoplazma ile sporozoitler meydana gelir. Üçüncü formu, sporogoni sonu oluşan enfektif karaktere sahip sporozoitler meydana getirir. Bunlar çoğunlukla yuvarlak, içlerinde kromatin maddeleri ihtiva eder (55). Sporogoni safhasında diğer bir görüşe göre primer sporoblastlarda çekirdek bölünmesi görülür. Bunları stoplasma bölünmesi takip eder ve sekonder sporoblast formu oluşur. Devam eden çekirdek bölünmesini hızlı olmaksızın sitoplazmik bölünme takip eder ve çok çekirdekli tersiyer sporoblastlar veya cytomerler oluşur. Böylece sporogoni aşaması sonuçlanır (59).



Şekil 2.2. *Theileria* spp.'nin hayat siklusunu (11). 1 Sporozoitler ixodid kenenin kan emmesi esnasında enjekte edilir. 2 yeni bölünmüş lenfositin içinde merozoitler oluşur. 3 Serbest motil merozoitler eritrositlerin içine girer. 4 eritrosit içinde (düşük oranda). 5 Az sayıdaki merozoitler diğer eritrositlere girer. 6 Küresel ve ovoid safhaların oluşumu (ör: gamontlar) 7,8 Kenenin bağırsağındaki kan kitlesinin içindeki serbest gamontlar. 8.1-8.4 dört çekirdekli form (8.2) tek çekirdeklinin bölünmesi ile 9 10 11-13 Kenenin bağırsak hücrelerinin içinde ovoid hareketsiz zigottan hareketli formun oluşumu. Zigot içinde gelişen kinet genişlemiş vakuolün (IV) içine doğru çıkıntı yapar. *Theileria parva* kinetlerinde (13) çekirdeğin bölünmesi bağırsak hücresinden ayrılmadan başlar. 14 *Ixodid* kenenin gömlek değiştirmesinden sonra ve yeni bir konağa tutunduğunda, kinetler tükürük bezinin hücrelerinin stoplazmasına girer ve gelişim ve tekrarlanan çekirdek bölünmeleri ile genç sporont oluşur. 15 Parazitizm konak hücresinin ve çekirdeğinin büyümesine sebep olur. Büyümüş konak hücresi içinde sporonttan binlerce sporozoit oluşur. Sporozotiler bir sonraki beslenmede nakledilir. AV, tükürük bezinin alveolar hücreleri; BI, E, eritrosit; IV, iç vakuol; KB, N, çekirdek; NH, konak hücre çekirdeği; SP, SPO, sporont; TH, diken benzeri yapı; JS, genç sporont.

2.9. KEÇİLERDE THEİLERİOSİS

Keçilerde theileriosis; *T. ovis*, *T. lestoquardi*, *T. separata* ve yeni tespit edilen *T. uilenbergi*, *T. luwenshuni* türleri tarafından meydana getirilen protozoer bir hastalıktır (7,51,76). *T. lestoquardi*, *T. luwenshuni* ve *T. uilenbergi*'nin yüksek patojeniteye sahip türler olduğu, koyun ve keçilerde ölümcül enfeksiyonlara sebebiyet verdiği bildirilmiştir (51,76). *T. ovis* ve *T. separata* ise düşük patojenitede subklinik enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Bunun yanında, *T. sp. MK*, *T.sp. OT1*, *T. sp. OT3* gibi genotipleri tespit edilmiştir. Ancak bu genotiplerin patojeniteleri hakkında detaylı bilgiler bulunmamaktadır (48,51, 76).

Theileria lestoquardi; eritrositik formları genellikle yuvarlak, oval, batone ya da anaplastoid şekillerde olup, yuvarlak ve oval formlar çoğunluktadır. Yuvarlak formlar 0,6-2 µm çapında, oval formlar ise 1,6 µm uzunluğundadır. Küçük armut formlar 0,5-1,5 µm, anaplastoid şekiller 0,5-1,2 µm çapındadır. Giemsa ile boyanmış preparatlarda parazitin sitoplazması açık mavi, çekirdeği kırmızı mor renkte görülür. Çekirdek, halka formların bir kenarında, diğer formların ise geniş kısmında bulunur. Halka ve oval şekillerin ortasında bir vakuol yer alır. Anaplastoid şekillerde sitoplazma güçlükle ayırt edilir. *T. lestoquardi*'nin şizontlarına lenf yumruları ve dalak ile serbest lenfoblastoid seri hücrelerinde rastlanır. Şizontların büyüklüğü ortalama 8 µm'dir. Bunlar, kırmızımsı mavi renkte, 1-2 µm çapında, 1-80 adet granül ihtiva ederler. Bunlardan 1-2 µm çapındaki merozoitler oluşur (8).

Theileria ovis; piroplasm ve şizont formları, *T. lestoquardi*'ye benzer. Ancak *T. ovis* enfeksiyonlarında, kanda parazitemi oranı çok düşüktür. Öte yandan lenf yumrusu, dalak ve karaciğer ile serbest lenfoblastoid hücrelerde bu türün şizontlarına rastlamak çok zordur. Yine *T. lestoquardi*'nin eritrositler içindeki çomak formları, *T. ovis*'de görülmez. *T. ovis* ile enfekte eritrositlerde ise sitoplazma içinde silik bir veil (peçe) bulunur (8).

Theileria separata; piroplasm formları yuvarlak, oval, bazen çomak şeklindedir. Bu tür ile enfekte eritrositin bir kenarındaki çöküntüde iyi teşekkül etmiş bir veil bulunur. Ayrıca enfekte eritrositin içinde nokta şeklinde bir leke de bulunur (71,77).

2.10. TÜRKİYE'DE THEİLERİOSİS

Türkiye'de koyun ve keçi theileriosisi ile ilgili yayınlar sınırlı olup, bu çalışmaların çoğu perifer kan frotilerinin mikroskopik muayenesi ile yapılmıştır (17, 78-80). Mikroskopik muayene temeline dayalı çalışmalarda, Karacabey Harasında 1931 yılında yapılan çalışmada koyunlarda *T. ovis* enfeksiyonları belirlenmiş (80), Ankara yöresinde değişik zamanlarda hastalanıp ölen 14 koyun ve 1 keçinin parazitolojik muayenesinde tespit edilen piroplasm formların *T. hirci* (*T. lestoquardi*) olduğu ifade edilmiş (78), Türkiye genelini kapsayan başka bir çalışmada, koyun ve keçilerde *T. ovis* enfeksiyonlarının belirlendiği, keçilerdeki parazitin *T. hirci* (*T. lestoquardi*) olabileceği belirtilmiştir (79). Orta Anadolu'da yapılan bir çalışmada, klinik babesiosisli 579 koyunun % 18,26'sının, sağlıklı görünümlü 236 koyunun % 59'unun ve 77 keçinin % 31'inin *T. recondita* (*T. ovis*) ile enfekte olduğu bildirilmiştir (17).

Kayseri yöresinde, koyunlarda % 18,44 keçilerde % 6 (76), İç Anadolu bölgesinde koyunlarda % 59,7, keçilerde % 31,1 (76), Malatya ve Güneydoğu Anadolu'nun bazı illerinde koyun ve keçilerde % 1- 4 oranında theileriosisin yaygın olduğu bildirilmiştir (22).

Çankırı yöresinde klinik semptom göstermeyen koyunlar ve Ankara keçileri üzerinde yapılan mikroskopik kan muayenelerinde, 128 koyunun 35'inde (% 27.35), 66 keçinin 6' sında (% 9.09) *Theileria* spp.'nin tespit edildiği bildirilmiştir (33).

Elazığ yöresinde *T. ovis*' in varlığının belirlenmesi için 103 koyun 61 keçi toplam 164 küçük ruminant üzerinde yapılan bir araştırmada mikroskopik muayene ile koyunların % 38,83' ünde *Theileria* spp. piroplasm formları tespit edilirken, keçilerin hiçbirinde bu etkene rastlanmamıştır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile aynı çalışmada, koyunların % 67,96' sında, keçilerin % 1,63' ünde *T. ovis*' in tespit edildiği bildirilmiştir (76).

Doğu ve Güneydoğu bölgelerinde PZR ve mikroskopik muayene ile *T. ovis* ve *T. lestoquardi*' nin araştırılması yapılmış; Malatya, Muş, Erzincan, Erzurum, Iğdır, Diyarbakır ve Mardin de toplam 677 koyun, 142 keçi üzerinde yapılan çalışmada mikroskopik muayenede koyunların % 18,29'unda, keçilerin % 2,88'inde *Theileria* spp piroplasm formları belirlenmiştir. PZR tetkiklerinde koyunların % 58,79'unda keçilerin % 11,27' sinde *T. ovis* tespit edilirken *T. lestoquardi* bulunamamıştır (81).

Kayseri yöresinde RLB ile 110 koyunda yürütülen çalışmada *T. ovis*'in prevalansı %32,4 olarak saptanmıştır (82). Kayseri'nin Yeşilhisar yöresinde RLB metoduyla gerçekleştirilen başka bir çalışmada koyun ve keçilerde *T. ovis*, prevalansı sırasıyla %48 ve %17 olarak tespit edilmiştir (83).

Türkiye'nin doğusunda klinik semptom göstermeyen koyunlar ve keçiler üzerine RLB tekniğiyle yapılan bir araştırmada *T. ovis* %34,56, *T.sp.MK* % 1,30, *T.sp.OT3* %0,43 olarak tespit edilmiştir (48).

2.11. BABESİOSİS VE THEİLERİOSİSİN EPİDEMİYOLOJİSİ

Babesiosis ve theileriosisın epidemiyolojisinde, bölgenin iklim özellikleri, vejetasyon durumu, coğrafik konumu, bölgede bulunan vektör kene türleri, bunların mevsimsel aktiviteleri, spesifik konakların varlığı, kene enfestasyon ve enfeksiyon oranları, önceki yıllarda o bölgedeki hastalıkların durumu, bunların yayılışları ve mevsimlere göre dağılımları değerlendirilmektedir (3, 83).

Bu hastalıklar vektör kenenin ekolojik özelliklerinden dolayı mevsimsel olarak seyretmektedir. Bu nedenle hastalık bölge özelliklerine göre kenelerin aktif olduğu dönemlerde görülmektedir. Türkiye için bu dönemler ilkbahar ve yaz aylarıdır (84).

Vektör keneler ve bunların doğru teşhisi babesiosis ve theileriosisın epidemiyolojisinde çok önemli bir yere sahiptir. Bu türlerin kenedeki gelişimi ve nakli; sıcaklık, nisbi nem, ışık, kenenin yaşı, parazitlerin kene üzerine etkisi gibi birçok faktörün etkilediğinden bahsedilmektedir (3). Bu türlerin vektördeki çoğalması sadece kenenin aktif olduğu dönemde gerçekleşir. Kenenin inaktif olduğu dönemlerde etkenlerde kenenin vücudun da inaktif haldedirler. Enfekte kene aktive olduktan sonra çeşitli organların hücrelerinde çoğalmalar başlar (3).

2.12. BABESİOSİS VE THEİLERİOSİSİN TEŞHİSİ

Geçmişte protozoonların tanımlanması ve sınıflandırılması, morfolojik özellikleri temel alınarak yapılmış ve bu durum morfolojik ayrımı yapılmayan organizmaların aynı tür içerisinde kabul edilmesi yanılığını doğurmuştur. Bu bağlamda morfolojik ayrımında sıklıkla yanılığa düşülen protozoon türleri izoenzim elektroforesis yönteminin uygulamaya başlamasıyla birlikte klinik vakalardan izole edilen patojen ve asemptomatik vakalardan izole edilen apatojen suşlar olarak iki gruba ayrılmışlardır. İzoenzim çalışmalarına ait verilerin antijenik ve DNA farklılıklarını ortaya koyan

çalışmalarla desteklenmesi sonucunda, apatojen ve patojen olarak nitelendirilen bu iki izolatın, ışık mikroskopuyla muayenede morfolojik olarak ayrımı mümkün olmayan ayrı türler oldukları anlaşılmıştır. Günümüzde nükleik asit tabanlı teknikler ile immunité düzeyi ya da geçirilmiş hastalıklardan etkilenmeksizin, morfolojik olarak benzer veya aynı antijenik epitoplari paylaşan organizmaların ayırt edilebildiği bildirilmektedir (83).

Parazit hastalıklarında etkene yönelik araştırmalar, doğrudan etkenin kendisine veya ona karşı oluşan antikorlara dayandırılmakta olup, her tanı metodununun parazitini tipi ya da incelenen klinik örnekten bağımsız olarak, kendi avantajları ve dezavantajları bulunduğu çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur (85).

2.12.1. Parazitin Tespiti

Babesia ve *Theileria* etkenlerinin saptanması, perifer kan frotilerinin mikroskopik muayenesiyle direkt olarak parazitin tespiti şeklinde olduğu gibi son yıllarda güncel olan moleküler biyolojik yöntemler ile nükleotid tespiti şeklinde yapılmaktadır (86).

2.12.1.1. Mikroskopik Muayene

Akut hastalıkların teşhisinde mikroskopik muayenede iki yöntem kullanılmaktadır. Bunlar ince yayma froti ve kalın damla yöntemidir ayrıca lenf yumrularını punksiyonundan hazırlanan Giemsa boyalı frotilerde akut theileriosisin teşhisi yapılmaktadır. Bu yöntemler akut hastalıkların seyri esnasında etkenin saptanması için hala en iyi ve güçlü teşhis aracı olup her laboratuarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak kan frotilerinin mikroskopik bakısı için deneyimli personelde önemlidir. Çünkü parazitlerin az olduğu durumlarda eritrosit içindeki gelişme formları gözden kaçabilir. Diğer taraftan personel deneyimli olsa da günde çok sınırlı preparata bakmak mümkündür (10, 86).

2.12.1.1.1. İnce Yayma Froti Yöntemi

Akut hastalıkların teşhisinde, mikroskopik muayenede ince yayma kan frotileri parazitin morfolojik detaylarının görülebilmesi sebebiyle kalın damla preparatlara göre daha fazla tercih edilmektedir. Parazitemi oranının düşük olduğu durumlarda tercih kalın damla preparatlar yönünde olmalıdır (85, 86).

2.12.1.1.2. Kalın Damla Yöntemi

Bu yöntem paraziteminin düşük olduğu durumlarda tercih edilmektedir. Aynı zaman da epidemiyolojik çalışmalarda serolojik testlerle birlikte kalın damla yönteminin de kullanılması tavsiye edilir (86).

Yukarıda belirtildiği gibi ince yayma ve kalın damla kan frotileriyle etkenin saptanması enfeksiyonun varlığını gösterir. Ancak bu preparatlarda etkenin bulunmaması enfeksiyon olmadığına göstergesi değildir. Çünkü hastalığın çok erken ve kronik dönemlerde, parazitler kan preparatlarında nadir olarak tespit edilebilmektedir.

Kan preparatlarında parazitin direk mikroskopik tanısı, özellikle preparat sayısının çok olduğu durumlarda, hem zaman kaybına hem de yanlış değerlendirmelere sebep olmaktadır (87).

2.12.2. Nükleotid Tespiti

Kanda görülen protozoer ve riketsiyal hastalıkların karakteristik özelliği olarak hastalık atıldıktan sonra iyileşen hayvanlar taşıyıcı hale gelirler. Böylece taşıyıcı hayvanlar vektör keneler için enfeksiyon kaynağı olup, görünüm itibari ile enfekte olmayan hayvanlardan ayırt edilemezler. Taşıyıcı hayvanların kanında genellikle çok az miktarda parazit bulunur ve bunlar frotilerde her zaman tespit edilemezler (88).

Kan protozoanlarının meydana getirdiği hastalıkların tanısında spesifik serolojik testlerden de yararlanır. Ancak bu testler indirek uygulamalar olduğu için etkenin direk kendi varlığını göstermezler. Bu tür hastalıkların teşhisinde bu ve bu gibi dezavantajlar, teşhiste daha özgül ve duyarlı metotların gerekliliğini ortaya koymuş moleküler biyolojik teşhis yöntemlerinin gelişmesine sebep olmuştur (88-90).

Parazitik ajanların nükleik asitlere dayalı yöntemlerle araştırılması, parazite özgü DNA ya da RNA sekanslarının belirleyici DNA molekülleri (prob) ile araştırılmasına dayanmaktadır. Oligonükleotid, DNA'nın bir bölümü, tek zincirli ya da plazmid DNA'sından oluşabilen proplar, radyoizotop, enzim veya kimyasal maddelerle işaretlenmekte, hedef örnekteki parazite ait nükleik asitlerle karşılaştırılmakta ve hibridize olmuş proplardan elde edilen direkt ya da indirekt pozitif sinyaller değerlendirilmektedir (85).

Nükleik asit tabanlı tanı yöntemlerinin geliştirilmesinde ilk basamak organizmaya özgü hedef sekansların tanımlanması ve elde edilmesi olup, özellikle belirli bir türün tüm izolatlarının saptanması amaçlandığında, polimorfik olmayan, varyasyon bölgelerini içermeyen dizilimlerin seçilmesi gerektiği bilinmektedir. Sonucun görülebilir hale getirilmesi için, yüksek duyarlılıkları nedeniyle radyolojik olarak işaretlenmiş proplar kullanılmaktaysa da, radyoaktif olmayan proplar stabil olmaları standardize edilebilmeleri, çevreye ve personele daha az zarar vermeleri gibi avantajları sebebiyle günümüzde tercih edilmektedir (85).

2.12.2.1. DNA Amplifikasyon Teknikleri

Bu teknikler klinik materyallerde bulunan veya izole edilen etkenlere ait DNA'ların veya bazı spesifik sekansların in-vitro ortamda enzimatik olarak amplifikasyonlarını amaçlar. Pratikte bu DNA amplifikasyon yöntemi diğerlerine oranla daha fazla uygulama alanı bulmuştur. RNA karakterindeki genomik materyaller de önce reverse transkriptaz (RT) ile komplementer DNA'ya (cDNA) çevrilerek amplifikasyonu yapılır (91). Bu teknikler *Babesia* ve *Theileria* türlerinin teşhis ve ayrımında da kullanılmıştır. Bununla birlikte metodun duyarlılığında örnekteki DNA'nın yoğunluğunun önem taşıdığı bildirilmiştir (90).

2.12.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Bu gün çeşitli hastalıklarda olduğu gibi babesiosis ve theileriosisde bilinen teşhis yöntemlerine göre daha duyarlı olan PZR büyük oranda DNA proplarının yerini almıştır (86).

PZR başlangıç ve bitiş uçları bilinen bir sekansın bir başka deyişle sınırları bilinen bir DNA segmentinin in-vitro amplifikasyonunda kullanılan biyoteknolojik bir tanı yöntemidir. Bu yöntem hedef DNA bölgesinin yüksek sıcaklığa maruz bırakılması sonucu denatürasyonu, kısa ve özgün oligonükleotid zincirler olan iki tür primerin bir kendisine ait 5' terminusu (ucu) ile hedef DNA iplikçiklerinden birinin 3' ucuna, diğeri ise öbür tek iplikçikli DNA'nın antiparalel 3' ucuna bağlanmak suretiyle amplifiye edilerek DNA segmentine bağlanması ve polimeraz enziminin katalize ettiği primer polarizasyonu kapsayan siklusların tekrarlanması esasına dayanır (7).

Rutin olarak, PZR testleri 1pg miktarındaki DNA'yı tespit edebilir. Bu duyarlılık nested-PZR ile protokolleri ile 1 fg DNA'ya kadar çıkabilmektedir (86).

2.12.2.3. Reverse Line Blotting (RLB)

RLB yöntemi, PZR ürünlerinin bir membranda ayrı sıralara bağlanmış özgün problara hibridizasyonu esasına dayanmaktadır. Teknik birçok etkenin aynı anda birçok prob ile karşılaştırılmasına olanak sağladığından oldukça pratik ve kullanışlıdır. Bu yöntem ilk defa 1988 yılında insanlarda orak hücre anemisi ile β Talesemi'nin teşhisinde kullanılmıştır (92). Rijpkema ve arkadaşları, bu tekniği aynı kenede bulunabilen 4 *Borrelia* türünün ayrılması için kullanmışlardır (93). Kamerbeek ve arkadaşları ise aynı metot ile *Mycobacterium tuberculosis*' in teşhisini ve tiplendirmesini yapmışlardır (94). Bu yöntemin kan protozoonlarının saptanmasında kullanılması, Gubbels ve arkadaşları tarafından 1999 yılında gerçekleştirilmiştir. Aynı araştırmacılar 18S ssRNA genindeki V4 değişken bölgesini çoğaltan primerlerle PZR' de çoğalttıkları gen bölgelerini RLB tekniğinde kullanarak sığırlarda görülen *Theileria anulata*, *T. parva*, *T. mutans*, *T. taurotragi*, *T. velifera*, *Babesia bovis*, *B. bigemina* ve *B. divergens*' in aynı anda özgün teşhislerini yapılabileceğini göstermişlerdir (95). Ceci ve arkadaşları, RLB ile sığırlarda *T. bufelli* ile *B. bigemina*'yı teşhis etmişlerdir (96). Kan protozoonlarının yanında, 16S rRNA gen bölgesini çoğaltan primerler kullanılarak yapılan PZR' yi takiben RLB'nin kullanılması ile *Anaplasma* ve *Ehrlichia* gibi riketsiyal etkenlerin teşhisi de başarı ile yapılmıştır (97-99).

Günümüzde özellikle kene kaynaklı hastalıklarla ilgili çalışmalarda RLB kullanımını artmakta olup bu tür hastalıkların teşhisinde standart bir test haline geldiği bildirilmektedir (90, 98-100).

2.12.3. Serolojik Teşhis

Babesia ve *Theileria* türlerine karşı oluşan özgül antikorların tespitine yönelik birçok immunodiagnostik test geliştirilmiştir. Bunlardan ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay), IFAT (Indirect Fluorescent Antibody), SELISA (Slide Enzym Linked Immunosorbent Assay), IHAT (Indirect Hemagglutination Test), CFT (Complement Fixation Test), LAT (Latex Agglutination Test) ve RIA (Radioimmunoassay) en çok kullanılan testlerdendir (8, 10, 101).

Özellikle latent ve subklinik seyirli olgularda *Babesia* ve *Theileria* parazitlerine karşı oluşan özgül antikorların serolojik testlerle indirekt olarak teşhisi sıklıkla kullanılmaktadır. Bu serolojik yöntemlerde kullanılan antijenler, akut hastalıklı hayvanların doku, serum ve parazitli eritrositlerinden elde edilmektedir (10).

CFT yöntemi babesiosisin teşhisinde kullanılan ilk serolojik testtir. Primer enfeksiyonun erken safhalarında üretilen IgM'lerin tespiti IgG'lere göre daha etkili bulunmuştur. Dolayısıyla bu testin kronik babesiosisli hayvanlarda duyarlılığı düşük olup enfeksiyonun başlangıcında %94-100 oranında saptanan pozitiflik, 4-5 ay sonra %50 azalmaktadır (10). Karşılaştırmalı olarak yapılan bir çalışmada enfeksiyondan 14 gün sonra alınan serumda, duyarlılık ELISA, Western Blot, IFAT ve CFT için sırasıyla %98,3, %96,6, %28,8 olarak bildirilmiştir (102).

Serolojik yöntemlerden ELISA, oldukça duyarlı ve etkili bir testtir. Bu test sonuçları bilgisayar tarafından değerlendirilmekte ve bir seferde çok miktarda örnek incelenebilmektedir. Testte antijen kalitesi duyarlılığı etkilemektedir. Direk enfekte eritrositlerden hazırlanan antijenler, konak eritrositleri ile kontamine olduklarından, anti-eritrositik antikolar sebebiyle yanlış sonuçlara sebep olmaktadır. Bu sorunlar iyi tanımlanmış, saflaştırılmış rekombinant antijenlerle giderilebilmektedir. Rekombinant antijenler konak proteini içermezler ve gruplar arasında varyasyon minimumdur, dolayısıyla daha duyarlıdırlar (101).

Antikor tespitinde kullanılan serolojik yöntemler içerisinde IFAT, daha ekonomik, güvenilir ve diğerlerine göre daha hassas olması sebebiyle tercih edilen bir testtir. Ancak testin değerlendirilmesine bağlı olarak yanlışlıkların ortaya çıkması *Theileria-Babesia*, *Babesia-Plasmodium* türleri arasında ve *Babesia*'nın kendi türleri arasında çapraz reaksiyonların olması, testin dezavantajlarından (103, 104). Bunun yanında, uzun süreli portörlük durumlarında, kanda piroplasmik formlar bulunmasına rağmen antikolar her zaman tespit edilmeyebilir (3).

2.13. BABESİOSİS VE THEİLERİOSİSİN TEDAVİSİ

Babesiosis ve theileriosisin tedavisinde uzun yıllardır çeşitli kimyasal bileşikler başarı ile uygulanmaktadır. Başarının derecesi hastalıkları oluşturan etkenlerin türüne ve ilaca karşı hayvanın gösterdiği toleransa bağlıdır.

Akut babesiosis ve theileriosisin tedavisi, parazitemi sonucu ortaya çıkan anemi ve yüksek ateş ile karakterize olan klinik belirtilerin hafifletilmesi ile ilgilidir. Bu amaçla kullanılan bileşiklerin bazıları çok etkilidir ve tek bir enjeksiyonla paraziteminin ortadan kaldırılması mümkündür. Bu durum hasta hayvan açısından olumlu bir sonuçtur. Ancak organizmanın parazitten tamamen arınması preimmünisyonun da sonu

olacağından ve hayvan endemik bir bölgede ise reenfeksiyonlara duyarlı hale geleceğinden, ilaçların etki mekanizmalarının da iyi bilinmesi gerekmektedir (105).

Babesiosis'e karşı sahada yaygın olarak kullanılan imidocarb: Karbanilid türevi bir maddedir ve genellikle dipropiyonat tuzu şeklinde bulunur; beyaz renkli suda çözünmeyen bir tozdur. İlaç özellikle paranteral yolla kullanılır. Vücudu değişmemiş halde ve büyük ölçüde idrar ve dışkı yoluyla terk eder. İlaç verilen hayvanların doku ve organlarında 5,5-6 ay süreyle kalıntılara rastlanır; bu sebeple, besi hayvanlarında kullanmaktan kaçınılmalıdır (7).

Tedavi süresince ve son ilaç uygulamasından sonra koyunlar 21 gün geçmeden kesime gönderilmemelidir ve etleri insan gıdası olarak tüketilmemelidir. Sütü insan tüketimine sunulacak sağlamal koyunlara uygulanmaz. İmidocarb koyunlara 1-1,2 mg/kg dozda deri altı olarak 24 saat aralıkla 2 defa verilir (7).

Theileriosis tedavisinde parvaquon, buparvaquon ve halofuginon gibi etken maddeler sıklıkla kullanılır. Parvaquon; 10 mg/kg dozunda kas içi enjeksiyonla 2 veya 4 gün aralıklarla 2 defa kullanılır. Kalıntı süresi ette 28 gün süte 14 gündür. Buparvaquon; Türkiye de sıklıkla kullanılan ilaçlar arasındadır. 2,5 mg/kg dozunda kas içi enjeksiyonla tatbik edilir, 2 veya 4 gün ara ile iki kez uygulanır. Parvaquon ve Buparvaquon sadece erken zamanda verildiğinde şizontlara etkilidir. Bir sürüde ilk olgunun ortaya çıkmasında sürünün diğer hayvanlarında da günlük vücut ısı ölçüm takiplerinin yapılması tavsiye edilir ve ateşin ilk ortaya çıkmasında tedavi edilir. Halofuginon' da 1,2 mg/kg 500 ml sıvı ile per-os yolla uygulanır fakat terapötik genişliği çok dar olduğundan pek tavsiye edilmez (7).

2.14. BABESİOSİS VE THEİLERİOSİSDEN KORUNMA

Babesiosis ve theileriosisde korucuyucu önlemlerin alınması büyük önem taşınmaktadır. Bu teknikler arasında, vektör kenelerle mücadele, suni preimmünizasyon ve aşılama önemlidir (8, 10, 102).

2.14.1.Vektör Kenelerle Mücadele

Hastalık kenelerle nakledildiği için bu hastalıktan korunma ve kontrolde kenelerle mücadele, yapılması gerekenler içinde en önemlisidir. Vektör kenelerle mücadele edilmedikçe, hastalığı eradike etmek mümkün değildir. Kenelerle savaş için bölgenin kene faunası tespit edilmeli ve bu kenelerin biyo-ekolojik özellikleri araştırılmalıdır.

Kene mücadelesi çeşitli akarisitlerle yapılabileceği gibi biyolojik ajanlarla da yapılabilir. Akarisit olarak, organik klorlu, organik fosforlu, karbamatlı ve pyretroid grubunda ilaçlardan banyo, püskürtme ve pour-on şeklinde yararlanılabildiği gibi ivermektin deriveleri de enjeksiyon şeklinde uygulanabilir (106-108).

Türkiye’de ilkbahar mevsiminde hayvanların üzerindeki keneleri uzaklaştırmak için banyo, püskürtme ve pour-on yoluyla çeşitli akarisitler kullanılmaktadır. Bu mücadeleye Nisan ayı sonundan itibaren başlanmalı, her 15 günde bir ilaçlama tekrarlanmalı ve Ağustos ayının ortalarına kadar devam edilmelidir. Ayrıca hayvanların barınakları da vektör kenelere karşı ilaçlanmalıdır. Aynı ilaç devamlı kullanıldığında direnç sağlaması ve bu direncin genetik olarak yeni nesillere geçmesi sebebiyle kullanılan ilaçları zaman zaman zaman zaman değiştirmek gerekmektedir (109).

Kenelere karşı mücadele de biyolojik ajanlar da kullanılabilir. Bu amaçla virus, bakteri, mantar, protozoon, nematod, insekt veya feromonlar kullanılmaktadır. Ancak bu ürünlerin etkinliği tam olarak bilinmemektedir. Bunun yanında, son yıllarda, kenelere karşı aşılar geliştirilmektedir. Antijen olarak, kenenin mide hücrelerinden elde edilen doğal veya rekombinat proteinlerin kullanıldığı bildirilmektedir (107).

Diğer taraftan endemik stabil bölgelerde, yoğun biçimde akarisit kullanılması, kene popülasyonunu azaltarak bölgenin instabil olmasına yani bölgedeki hayvanların hastalığa karşı duyarlı hale gelmesine sebep olmaktadır. Bu yüzden özellikle sıkı kene mücadelesinin instabil bölgelerde uygulanması önerilmektedir (7).

2.14.2. Suni Preimmunizasyon Kazandırılması

Enzootik bölgelerde yetiştirilen hayvanlar babesiosis ve theileriosis karşı ilk 6 ayda, enfeksiyon immunitesi ya da preimmunizasyon kazanırlar. Sonuç olarak bu hayvanlar az miktarda parazit taşırlar ve bölgedeki lokal şuşlara karşı belirli ölçüde bağıştıkları, buna bağılı olarak da klinik belirti göstermezler. Bölgeden kenelerin tamamen uzaklaştırılması ve küratif ajanlarla enfeksiyonun tamamen ortadan kaldırılması sonucu hayvanlar duyarlı hale gelir. Bu durumda olan ya da parazitin bulunmadığı instabil bölgelerden böyle endemik bölgelere gelecek olan hayvanlara suni preimmunizasyon kazandırma uygulamaları yapılabilir. Bunun için duyarlı olan hayvanlara, *Babesia* ve *Theileria* taşıyıcısı olan hayvanların kanı verilir ve oluşan ateş ve parazitemi takip edilir. Klinik belirtilerin oluşması ile birlikte tedavi dozunun altında imidazol veya buparvoquon preparatı uygulanarak hastalığın çıkışı önlenir. Ancak belirli bir miktar

parazitin canlı kalmasına müsaade edilir. Böylece uygulama yapılan hayvanlarda yapay olarak preimmünizasyon uygulamaları sağlanmış olur (107).

2.14.3.Aşılama

Babesiosis ve theileriosisin naklinden sorumlu olan kenelere karşı yürütülen mücadelede çeşitli akarasilere karşı gelişen direnç sebebiyle, hastalıkla mücadelede etkene karşı aşılama yapılması önem kazanmıştır. Uzun yıllar preimmun durumdaki hayvanların kanları aşılamada kullanılmıştır (101, 106). *Babesia ovis*'e karşı Bulgaristan'da canlı, *Theileria lestoquardi*'ye karşı İran'da in-vitro şizont aşıları mevcuttur (110).

Son yıllarda moleküler biyoloji ve gen teknolojisindeki gelişmelere paralel olarak, DNA aşıları geliştirilmeye başlanmıştır. İmmunolojik özelliği iyi olduğu tespit edilen, antijenik proteinleri kodlayan gen bölgesi saptanarak klonlanmış ve bu klonlama ile çoğaltılan antijenik proteinler aşılamada kullanılmıştır (107).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. SAHA ÇALIŞMALARI

Bu çalışma için gerekli materyali toplamak amacıyla, çeşitli zamanlarda Kahramanmaraş merkeze bağlı belde ve köylere gidilerek, klinik belirti göstermeyen sağlıklı hayvanlardan rastgele 300 keçi seçilmiştir. Örnekleme alınan keçilerin belde ve köylere göre dağılımı Tablo 3.1’de verilmiştir. Bu keçilerden RLB için EDTA’lı tüplere vena jugularis’ den, tekniğine uygun olarak kan alınmış, ayrıca mikroskopik bakı için aynı hayvanların kulak uçlarından perifer kan frotileri hazırlanmıştır.

Tablo 3.1. Örneklemeye alınan keçilerin belde ve köylere göre dağılımı.

Araştırma Merkezi	Mevcut Sürü Sayısı (Ağıl Sayısı)	Seçilen Sürü Sayısı (Ağıl Sayısı)	Mevcut Hayvan Sayısı (Keçi)	İncelenen Hayvan Sayısı (Keçi)
Sarıgözel	12	4	1773	30
Karacasu	14	5	2536	28
Elmalar	6	3	929	18
Güzelyurt	2	2	767	17
Çokyaşar	6	2	1037	15
Hacıbudak	4	1	883	18
Hacımnoğlu	6	2	1089	15
Avcılar	2	1	541	12
Kurucuova	12	3	1604	20
Tekir	7	2	614	10
Çağlayan	1	1	247	8
Ağabeyli	8	4	221	14
Kemalli	8	7	314	15
Budaklı	8	1	2270	13
Gölpınar	3	1	300	12
Döngel	15	5	700	20
Şahinkayası	12	4	1942	25
Şerefoğlu	4	1	421	10
Toplam	130	49	18188	300

3.2. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

Toplanan EDTA'lı tüplerdeki kanlar DNA ekstraksiyonuna kadar -20 °C'de saklanmışlardır. Perifer kandan hazırlanan sürme preparatlar da tekniğe uygun şekilde boyanarak değerlendirilmek üzere hazırlanmıştır.

3.2.1. Kan Frotilerinin Yapımı ve Muayenesi

Perifer kandan yapılan kalın damla frotiller 100 °C' lik etüvde 15 dakika, sürme frotiller ise havada kurutulduktan sonra, metil alkolde 5 dakika tutularak tespit edilmiştir. Tespit edilen frotiller % 5'lik Giemsa boya solusyonu ile oda ısısında 30 - 45 dakika boyanmıştır. Boyanan frotiller musluk suyu altında yıkanıp kurutulduktan sonra immersiyon yağı damlatılarak mikroskobun 100'lük objektifi altında *Babesia* ve *Theileria* türleri yönünden kontrol edilmiştir.

3.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu

Parazit DNA'sının elde edilmesi için EDTA'lı tüplere alınarak -20 °C'de saklanan kanlar kullanılmıştır. Kanda, eritrositlerin içindeki parazitlerin DNA'sının elde edilmesi için ekstraksiyon işlemi ticari ekstraksiyon kiti (Axygen) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Elde edilen DNA ekstraktları PZR işlemine kadar -20 °C'de saklanmıştır

3.2.2.2. PZR Yapılışı

Polimeraz Zincir Reaksiyonu için Thermo Hybaid PX2 (Hybaid) PZR makinesi kullanılmıştır. Reaksiyonda primer olarak *Babesia* ve *Theileria* soylarındaki parazitlerin 18S ssr RNA (small subunit ribozomal RNA) geninin değişken V4 bölgesinden büyüklüğü 460 ile 520 bp (base pairs = baz çifti) arasında değişen bir parçayı amplifiye eden genel primerler (RLBF2 5' GAC ACA GGG AGG TAG TGA CAA G'3 ve RLBR2 Biotinle işaretli 5'-TCT TCG ATC CCC TAA CTT TC-.3') kullanılmıştır (95,98).

- Reaksiyon Karışımı;
1X PZR buffer
1,5mM MgCl₂
200 µM her bir (dATP, dCTP,dGTP), 100 µM (dTTP, dUTP) deoxynucleotiden
50 pmol-her bir primerden
1,25 U taq DNA polimeraz
1,25 U Uracil DNA glycosylase
5 µl DNA örneği şeklinde hazırlanmıştır.

- Karışım her biri 200 µl' lik ısıya dayanıklı özel PZR reaksiyon tüplerine (Axygen) 45 µl reaksiyon karışımı 5 µl DNA olmak üzere porsiyonlanmıştır.
- Reaksiyon için tüpler otomatik PZR makinesine (Thermo-Hybaid) yerleştirilmiştir ve iki sikluslu touch down PZR programı uygulanmıştır.
- PZR programı

1 siklus	37 °C' de 3 dakika
	94°C' de 10 dakika
2 siklus	94 °C' de 20 saniye
	67 °C' de 30 saniye
	72 °C 'de 30 saniye
2 siklus	94 °C' de 20 saniye
	65°C' de 30 saniye
	72 °C' de 30 saniye
2 siklus	94 °C' de 20 saniye
	63 °C' de 30 saniye
	72 °C' de 30 saniye
2 siklus	94 °C 'de 20 saniye
	61 °C' de 30 saniye
	2 °C' de 30 saniye
2 siklus	94 °C' de 20 saniye
	59 °C' de 30 saniye
	72 °C' de 30 saniye
40 siklus	94 °C' de 20 saniye
	57 °C' de 30 saniye
	72 °C' de 30 saniye

65°C' de bekle

Amplifikasyon sonunda elde edilen PZR ürünlerinin bir kısmı (20 µl) % 1,7'lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutularak, Gene Genius Jel Dökümentasyon Sistemi ve imaj analiz programı (Syngene) kullanılarak görüntülenip analiz edilmiş, geri kalanı ise (30µl) RLB testinde kullanılmak üzere +4 °C' de saklanmıştır.

3.2.2.3. Pozitif ve Negatif Kontrol

Testin bilinen *Babesia* ve *Theileria* türlerinin DNA'larını amplifiye ettiğini göstermek amacıyla pozitif kontrol olarak, *B. ovis* (Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesinden), *B.motasi*, *B.crassa*, *T.ovis*, *T. lestoquardi* (Borstel, Germany) ve negatif kontrol olarak da sağlıklı keçi DNA'sı kullanılmıştır.

3.2.3. Reverse Line Blotting (RLB)

3.2.3.1. RLB Membranın Hazırlanması

Bu aşamada kullanılan problemlerin tamamı negatif yüklü Biotin C membrana kovalent bağlanabilmeleri amacıyla, 5' uçlarında amino grubu N terminal N-(Trifluoracetamidohexyl-cyanoethyl, N, N-diisopropyl. phosporamidite (TFA) C6 aminolinker) içerecek şekilde MWG (Almanya) firmasına sentezletirilmiştir. Membran Georges ve ark. (98), Gubbels ve ark.(95)'nin bildirdiği şekilde hazırlanmıştır.

- Problemler 500 mM NaHCO₃ (ph 8,4) içinde 100-400 pmol/150 µl konsantrasyonlarda sulandırılmıştır.
- Kullanılacak olan membran oda ısısında 10 dakika, 10 ml % 16 EDAC (1-ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl) carbodiimide) (Sigma) ile aktive edilmiş ve sonra su ile yıkanmıştır.
- Membran yıkama işleminden sonra MN45 miniblottera (Immunetics, Cambridge, Mass) yerleştirilmiştir.
- Membran üzerindeki kalıntı sıvılar iyice aspire edildikten sonra, ilk ve son kanala 2X SSPE ile % 2 oranında sulandırılmış çini mürekkebi, diğer kanallara ise her probtan 150 µl dökülmüş, oda ısısında 1-2 dakika inkübe edilmiştir.
- İnkübasyon sonunda kanallardaki sıvılar aynı şekilde aspire edilerek boşaltılmıştır.
- Miniblotterdan çıkarılan membran 100 mM NaOH içinde 10 dakika inkübe edilerek inaktive edilmiştir.
- İnaktivasyon sonunda membran 2X SSPE/0,1 SDS karışımında 60 °C'de 5 dakika yıkanarak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

3.2.3.2. RLB Hibridizasyon

Hibridizasyon işlemi Georges ve ark.(98), Gubbels ve ark. (95)' nın bildirdiği şekilde yapılmıştır.

- Önceden elde edilen PZR ürünlerinin her birinden 30 µl alınarak, 2X SSPE/0,1 SDS karışımı ile 150 µl' ye tamamlanmış ve 100 °C 'de 10 dakika denatüre edilmiştir.
- Membran önceden dökülen prob sıraları ile miniblotterın kanalları 90° açı yapacak şekilde miniblottera yerleştirilmiştir.
- Membrandaki fazla sıvı aspire edilerek uzaklaştırılmıştır.
- Denatüre edilen ve sulandırılan PZR ürünleri miniblotterın kanallarına dökülmüş 42 °C'de 1 saat boyunca inkübe edilerek, problarla hibridizasyonları sağlanmıştır. Bu aşamada miniblotterın çalkalanmamasına dikkat edilmiştir.
- Hibridizasyon süresinin sonunda kanallardaki sıvı aspire edilmiştir.
- Miniblotterdan çıkarılan membran, 2X SSPE/ 0,1 SDS solusyonu ile 2 defa 52 °C'de 10 dakika yavaşça çalkalanarak yıkanmıştır.
- Bu işlemi takiben membran, 42 °C'de 30 dakika 10 ml Horseradish Peroksidaz ile işaretlenmiş streptavidin solusyonunda hafif çalkalanarak (2X SSPE / % 0.5 SDS ile 1:4000 oranında sulandırılmış) inkübe edilmiştir.
- İnkübasyonu takiben membran 2X SSPE / 0.5 SDS ile 2 defa 42° C 'de 10 dakika yıkanmıştır.
- Membran 10 ml ECL sıvısında 10 dakika inkübe edilmiştir.
- İnkübasyonu takiben sert bir zemine alınan membranın üzeri asetatla örtülerek, hava kabarcıkları uzaklaştırıldıktan sonra karanlık ortamda üzerine ECL hyperfilm konulmuştur.
- Sinyal yoğunluğuna göre film 30 saniye ile 1 saat arasında tutulmuştur.
- Daha sonra filmler banyo edilerek geliştirilmiştir.

Değerlendirme de filmler üzerinde prob ve PZR ürünlerinin döküldüğü sıraların keşiştiği yerlerde meydana gelen siyah lekeler pozitif olarak kabul edilmiştir.

3.2.3.3 RLB' nin Duyarlılığının Saptanması

Daha önce aynı testle yapılan benzer çalışmalarda testin sevsitivitesi 10^{-6} olarak saptanmış, *Babesia* ve *Theileria* pozitif kontrol DNA'ları kullanılarak da özgüllüğü ortaya konulmuştur. Kontrol DNA' lar ile yapılan testlerde propları dışında bağlanmalar gözlenmemiştir.

3.2.4. PZR ve RLB Testlerinde Kullanılan Gereçler

- PZR makinesi
- 200 µl'lik PZR tüpü
- Elektroforez tankı
- Güç Kaynağı
- Dökümentasyon Sistemi
- Biodyn C membran
- MN 45 Miniblotter
- ECL hyperfilm

3.2.5. PZR ve RLB Testlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler

- DNA ekstraksiyon kiti (Axygen)
- 10X PZR Buffer
- MgCl₂
- dNTP mix
- dUTP
- Uracil DNA glycosylase
- Taq Polymerase
- 500 mM NaHCO₃
- %16 EDAC
- 100 mM NaOH
- 0,5 M EDTA

- **5X Tris- Borate EDTA (TBE):** 54 g Tris base
27,5 g Borik Asit
20 ml 0.5 MEDTA

1 lt 'ye tamamlanıp manyetik karıştırıcıda karıştırılır.

- **% 10 SDS:** 10 g SDS (Lauryl Sulphate)
100ml H₂O

Karıştırılıp, 60 °C' lik su banyosunda eritilir.

- **20X SSPE:** 175,3 g NaCl
27,6 g NaH₂PO₄-H₂O
7,4g EDTA
800 ml H₂O

10 N NaOH ile ph 7,4'e ayarlanır. 1 lt' ye tamamlanır.

- **2X SSPE/0.1 SDS:** 100 ml 2X SSPE
10ml %10 SDS
890 ml H₂O

Karıştırılıp, 60°C' lik su banyosunda eritilir.

- **2X SSPE/0.5 SDS:** 100 ml 2X SSPE
50ml %10 SDS
850 ml H₂O

Karıştırılıp, 60 °C' lik su banyosunda eritilir.

- Streptavidin
- ECL tespit sıvısı

3.2.6. PZR ve RLB testlerinde Kullanılan Primerler ve Problar

PZR testinde kullanılan primer listi kaynaklarıyla birlikte Tablo 3.2' de verilmiştir.

Biodyn C membrana tutturulan aminolinkerli probların 5'-3' dizilişleri ve kaynakları Tablo 3.3' de verilmiştir.

Tablo 3.2. PZR’da kullanılan primerler

Primerin Adı	Dizilişi	Kaynak
RLBF₂	5’GAC ACA GGG AGG TAG TGA CAA G’3	95
RLBR₂	Biotinle işaretli 5’TCT TCG ATC CCC TAA CTT TC’3	95

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan problemlerin 5’-3’ dizilişi

Prop	Dizilişi	Kaynak
Catchall	TAATGGTTAATAGGA(AG)C(AG)GTTG	95
<i>Theileria</i> spp.	TGATGGGAATTTAAACC(CT)CTTCCA	111
<i>T. ovis</i>	TTTTGCTCCTTTACGAGTCTTTGC	111
<i>T. lestoquardi</i>	ATTGCTTGTGTCCCTCCG	112
<i>Babesia</i> spp.	CCT(GT)GGTAATGGTTAATAGGAA	112
<i>B. ovis</i>	GCGCGCGGCCTTTGCGTACT	111
<i>B. motasi</i>	ATTGGAGTATTGCGCTTGCTTTTT	111
<i>B. crassa</i>	TTATGGCCCGTTGGCTTAT	112

3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

Testlerin sonuçları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemliliği χ^2 (ki kare) testiyle incelenmiştir. Bu istatistiksel testler için SPSS 13.0 programından yararlanılmıştır.

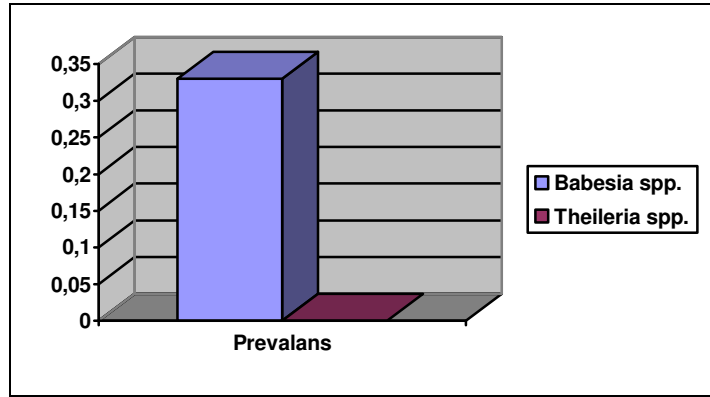
4. BULGULAR

Bu çalışma ile Kahramanmaraş yöresindeki klinik belirti göstermeyen 300 keçide *Babesia* ve *Theileria* türlerinin varlığı mikroskopik bakı ve RLB ile incelenmiştir.

Hayvanların kulak uçlarından hazırlanan 300 perifer kan frotisinin mikroskopik incelenmesi sonucunda 1 (% 0,33) örnekte *Babesia* spp. saptanmış buna karşın *Theileria* spp.'ye rastlanmamıştır. Mikroskopik bakıda türlerin ayrımı yanlışlıklara sebep olabileceğinden, sadece soy düzeyinde değerlendirme yapılmıştır. Mikroskopik bakıda *Babesia* spp. pozitif olan örnek Sarıgül köyünden alınmıştır. Araştırmaya dahil keçilerde *Babesia* ve *Theileria* türlerinin mikroskopik prevalansı Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Mikroskopik muayeneye göre incelenen hayvanlarda *Babesia* ve *Theileria* enfeksiyonlarının prevalansı açısından istatistiksel farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.1. *Babesia* ve *Theileria* türlerinin mikroskopik prevalansı.

Muayene Edilen Hayvan Sayısı	<i>Babesia</i> spp.	%	<i>Theileria</i> spp.	%	$X^2 = 1,002$ $P = 0,317$
300	1	0,33	0	0,0	

**Şekil 4.1.** Mikroskopik prevalansın türlere göre yüzdesel dağılımı

RLB testi ile incelenen 300 keçiye ait kan numunesinde tespit edilen *Babesia* ve *Theileria* türlerinin araştırma merkezlerine göre dağılımı Tablo 4.2’de verilmiştir.

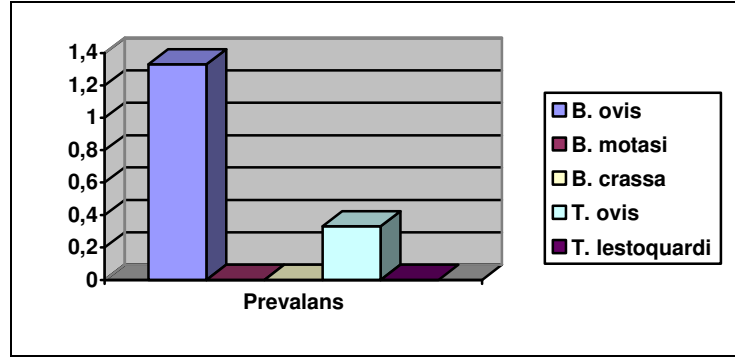
Tablo 4.2. RLB ile saptanan *Babesia* ve *Theileria* türlerinin araştırma merkezlerine göre dağılımı.

Araştırma Merkezi	İncelenen Hayvan Sayısı (Keçi)	B.ovis	%	B.motasi	%	B.crassa	%	T.ovis	%	T. lestoquardi
Sarıgüzel	30	2	6,66	0	0	0	0	0	0	0
Karacasu	28	1	3,57	0	0	0	0	0	0	0
Elmalar	18	1	5,55	0	0	0	0	0	0	0
Güzelyurt	17	0	0	0	0	0	0	1	5,88	0
Çokyaşar	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hacıbudak	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hacımnoğlu	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Avcılar	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kurucuova	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tekir	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Çağlayan	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ağabeyli	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kemalli	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Budaklı	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gölpınar	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Döngel	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Şahinkaya	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Şerefoğlu	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Toplam	300	4	1,33	0	0	0	0	1	0,33	0

Buna göre, RLB testi sonucunda keçilerin 4 (% 1,33)'ünde *B. ovis*, 1 (% 0,33)'inde *T. ovis* tespit edilmiştir. RLB ile incelenen hayvanlarda *Babesia* ve *Theileria* enfeksiyonlarının prevalansı açısından istatistiksel farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.3. RLB testi ile tespit edilen türlerin prevalansı

Muayene Edilen Hayvan Sayısı	Babesia ovis	%	Theileria ovis	%	$X^2 = 1,815$ $P = 0,178$
300	4	1,33	1	0,33	

**Şekil 4. 2.** Moleküler prevalansın türlere göre yüzdesel dağılımı

Çalışmada saptanan pozitifliklerin yaş ve cinsiyete göre dağılımları Tablo 4. 4'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Saptanan pozitifliklerin yaş ve cinsiyete göre dağılımı

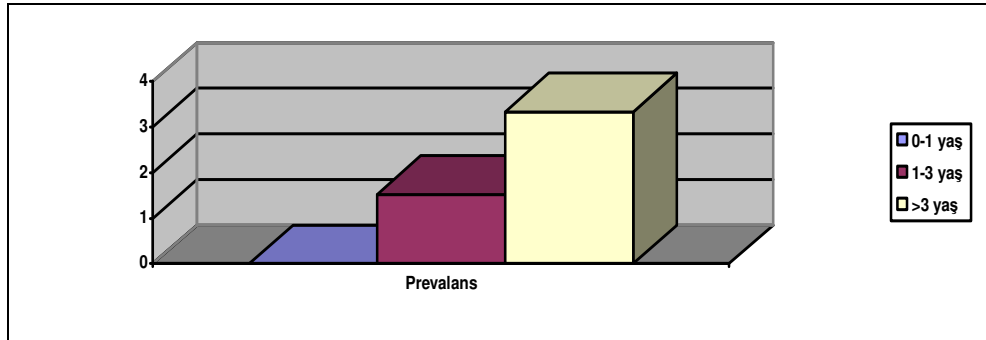
Keçilerin Yaş ve Cinsiyetleri		Hayvan Sayıları	B. ovis	T. ovis
0-1 Yaş	Dişi	61	-	-
	Erkek	18	-	-
1-3 Yaş	Dişi	110	1	-
	Erkek	21	1	-
3 Yaş Üstü	Dişi	86	2	1
	Erkek	4	-	-

Buna göre, örnek alınan 1-3 yaş arası 110 dişi keçinin 1 (% 0,33) inde, 21 erkek keçinin 1 (% 0,33)' inde *B. ovis* bulunurken, 3 yaş üstü 86 dişi keçinin 2 (% 0,66)' sinde *B. ovis*, 1 (% 0,33)' inde *T. ovis* tespit edilmiştir.

Babesia ve *Theileria* enfeksiyonlarının yayılışına yaşın etkisi incelendiğinde (Tablo 4.5 ve Şekil 4.3.), >3 yaş grubundaki prevalansın diğer yaş gruplarına göre yüksek bulunmuş ancak bu farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 4.5. *Babesia* ve *Theileria* enfeksiyonlarının yayılışına yaşın etkisi

Yaş Grupları	İncelenen Keçi Sayısı	Enfekte Keçi Sayısı		χ^2	P
		Sayısı	%		
0-1 yaş	79	0	0	2,880	0,237
1-3 yaş	131	2	1,52		
> 3 yaş	90	3	3,33		
Toplam	300	5	1,66		

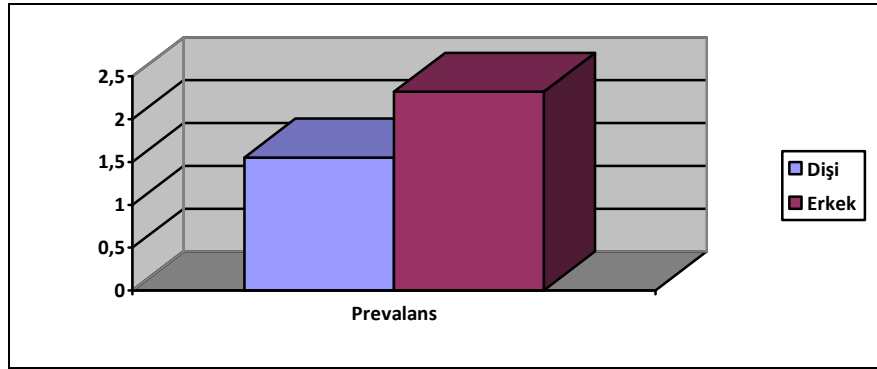


Şekil 4.3. *Babesia* ve *Theileria* enfeksiyonlarının yaş gruplarına göre yüzdesel dağılımı

Babesia ve *Theileria* enfeksiyonlarının yayılışına cinsiyetin etkisi incelendiğinde (Tablo 4.6 ve Şekil 4.4), prevalansın erkeklerde yüksek olduğu bulunmuş ancak bu farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 4.6. *Babesia* ve *Theileria* enfeksiyonlarının yayılışına cinsiyetin etkisi

Cinsiyet	İncelenen Keçi Sayısı	Enfekte Keçi Sayısı		X^2	P
		Sayısı	%		
Dişi	257	4	1,55	0,133	0,715
Erkek	43	1	2,32		
Toplam	300	5	1,66		

**Şekil 4.4.** *Babesia* ve *Theileria* enfeksiyonlarının cinsiyete göre yüzdesel dağılımı

Sonuç olarak, Kahramanmaraş yöresinde keçilerde *Babesia* ve *Theileria* türlerinin mikroskopik prevalansı % 0,33, moleküler prevalansı % 1,66 olarak tespit edilmiştir. Türlerine göre bakıldığında *B. ovis* moleküler olarak % 1,33, *T. ovis* % 0,33 olarak tespit edilmiştir. Diğer *Babesia* ve *Theileria* türlerine ise rastlanmamıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Koyun ve keçilerde babesiosis ve theileriosis tropik ve subtropik bölgelerde, kenelerle nakledilen ve ekonomik kayıplara yol açan önemli bir hastalıktır. Dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi Türkiye’de de hayvan yetiştiriciliğini tehdit eden önemli sorunlardandır. Keçilerde babesiosis; *Babesia ovis*, *B. motasi* ve *B. crassa* tarafından, theileriosis ise *T. ovis*, *T. lestoquardi*, *T. separata* ve yeni tespit edilen *T. uilenbergi*, *T. luwenshuni* türleri tarafından meydana getirilmektedir (7, 51, 76). *T. lestoquardi*, *T. luwenshuni* ve *T. uilenbergi*’ nin yüksek patojeniteye sahip türler olduğu, koyun ve keçilerde ölümcül enfeksiyonlara sebebiyet verdiği bildirilmiştir (51, 76). *T. ovis* ve *T. separata* ise düşük patojenitede subklinik enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Bunun yanında, *T. sp. MK*, *T.sp. OT1*, *T. sp. OT3* gibi genotipleri tespit edilmiştir (48, 51, 76).

Bugüne kadar babesiosis ve theileriosisin teşhisinde perifer kan frotilerinin mikroskopik muayenesi, serolojik muayene gibi teknikler kullanılmış; son yıllarda bunlara, PZR gibi moleküler biyolojik yöntemler de eklenmiştir. Bu teşhis yöntemlerinin uygulamaları sırasında birbirlerine göre çeşitli avantaj ve dezavantajları ortaya çıkmıştır (101).

Babesiosis ve theileriosisde hastalığı atlatan hayvanlar, uzun süre vücutlarında, az miktarda parazit taşıyarak vektör kenelerin enfeksiyon kaynağını oluşturmakta ve hastalık için portörlük yapmaktadırlar. Bu durumdaki taşıyıcı hayvanlarda mikroskopik

muayene ile etkenleri teşhis etmek güçleşmekte ve yanılığlara sebep olmaktadır (96,113,114). Mikroskopik muayenede etkenin saptanmasının güçlüğü ile birlikte *Babesia* ve *Theileria* türlerinin ayrımlarını da yapmak zordur.

Bu durum özellikle miks enfeksiyonlarda karışıklıklara sebep olmaktadır. Özellikle saha şartlarında hastalığın birden fazla tür tarafından oluşturulan miks enfeksiyonlar şeklinde seyrettiği göz önüne alındığında bu durum önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (114, 115).

Diğer taraftan, parazitin bizzat kendisinin değil de, ona karşı oluşan antikorların tespiti esasına dayanılarak yapılan IFAT, ELISA, CFT gibi serolojik yöntemler ve bunlardan özellikle IFAT, babesiosis ve theileriosisin teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (116). Ancak bu yöntemlerde, etken bulunmadığı halde antikorların varlığını devam ettirmesine bağlı olarak ortaya çıkan seropozitifliklerin (95) ve çapraz reaksiyonların sebep olduğu yanlış pozitifliklerin meydana gelebileceği bildirilmiştir (103).

Yukarıda açıklandığı gibi, parazitlerin teşhisinde gerek mikroskopik gerekse serolojik yöntemlerde karşılaşılan olumsuzluklar moleküler biyolojik çalışmalara paralel olarak geliştirilen PZR tekniği ile giderilmeye çalışılmıştır. Bu teknik ile özellikle taşıyıcı hayvanlarda *Babesia* ve *Theileria* türlerini de içine alan birçok patojen etkenin duyarlı ve özgül şekilde teşhis edilmesine olanak sağlanmıştır (88, 115, 117, 118). Ancak türe özgü PZR kullanılması durumunda, her hastalık etkeni için ayrı ayrı testlerin yapılması gerektiğinden bu durum hem zaman hem de ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu kayıpların giderilmesi amacıyla bir defada birden fazla parazit türünün teşhisine olanak sağlayan ve aynı zamanda PZR' a göre daha duyarlı olan RLB yöntemi geliştirilmiştir (95, 98).

Geçmişte yapılan çalışmalarda, kan protozoonlarının teşhisinde PZR ve RLB'nin mikroskopik bakı ve IFAT'a göre hem daha duyarlı hem de daha özgül olduğu bildirilmiştir (108, 109, 114, 116). PZR ve RLB ile minimum parazitemi değerlerinin 10^{-5} - 10^{-7} arasında olduğu durumlarda bile parazitlerin saptanabildiği bildirilmiştir. Gubbels ve ark. (95) ise RLB yöntemi ile *Babesia* ve *Theileria* türlerini 10^{-6} parazitemi değerinde bile saptamışlardır. Bu çalışmada da kullanılan RLB yönteminin daha önceden aynı laboratuarda yapılan standardizasyon çalışmalarında *Babesia* ve *Theileria* türleri için tespit edilebilen minimum parazitemi değerinin 10^{-6} olduğu görülmüştür (95).

Türkiye’de koyun babesiosisi ile ilgili ilk bilgiler 1930’lu yıllara dayanır (13, 14-15). Günümüze kadar yapılan mikroskopik, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda *B. ovis* ve *B. motasi*’nin varlığı ortaya konmuştur (16-18). *B. crassa*’nın varlığı ile ilgili bir bulguya rastlanmamıştır. *Babesia ovis* koyun ve keçilerde yaygın olarak bulunurken, *B. motasi*’nin Türkiye’de Van yöresinde koyunlarda varlığı ileri sürülmüştür (18).

Babesia ovis; mikroskopik olarak Doğu Anadolu’da %0,85-30,6 (18-26), İç Anadolu Bölgesi’nde %0,41-62,5 (17, 27-33), Karadeniz Bölgesi’nde %35,16-67,3 (24, 34, 35), Marmara bölgesinde %0-40 (36-38), Güney Doğu Anadolu’da %1-1,82 (22, 39, 40) oranlarında bildirilmiştir.

Keçilerinde dahil olduğu az sayıdaki çalışmalarda, Çankırı yöresinde 128 koyun, 66 keçi üzerine yapılan mikroskopik kan muayenesinde, koyunlarda % 28,36, keçilerde % 12,18 *B. ovis* tespit edilmiştir (33). Kayseri yöresinde mikroskopik muayene ile 192 koyunun 34’ünde, 47 keçinin 3’ünde olmak üzere toplam 239 küçük ruminantın 37’inde *B. ovis* tespit edilmiş olup prevalansı koyunlarda % 17,70 keçilerde ise % 6,38 bulunmuş *Babesia motasi* ise tespit edilememiştir (16). Niğde yöresinde *Babesia ovis*’in prevalansı koyunlarda mikroskopik olarak %12,72, keçilerde %2,17 koyunlarda saptanmıştır (41). Kayseri’nin Yeşilhisar ilçesinde yapılan bir çalışmada keçilerde *B. ovis*’in mikroskopik prevalansı %5 olarak tespit edilmiştir (42).

Moleküler olarak *B. ovis*’in prevalansı; Kayseri’nin Yeşilhisar ilçesinde koyunlarda %4, keçilerde %3 (42), Kayseri yöresinde koyunlarda %0,9 (46), Orta Anadolu’da koyunlarda %2,9, keçilerde %2 toplamda küçük ruminatlarda %2,6 (47) ve Doğu Anadolu’da koyunlarda %5,43 (48), Doğu ve Güney Doğu Anadolu’da küçük ruminatlarda %21,42 %8,25 (40, 49), Doğu Anadolu’da kenelerde %16,37, küçük ruminatlarda %6,66 (50) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca küçük ruminatlarda *Babesia* türlerinin PCR ve RLB ile karşılaştırmalı tanısı yapılmıştır (51). Kayseri ve Yeşilhisar yörelerinde yapılan çalışmalarda *B. ovis* ve *T. ovis*’in miks enfeksiyonlarına da rastlanmıştır (42, 46).

Türkiye’de koyun ve keçi theileriosisi ile ilgili yayınlar sınırlı olup, bu çalışmaların çoğu perifer kan frotilerinin mikroskopik muayenesi ile yapılmıştır (17, 78-80). Mikroskopik muayene temeline dayalı çalışmalarda, Karacabey Harasında 1931 yılında yapılan çalışmada koyunlarda *T. ovis* enfeksiyonları belirlenmiş (80), Ankara yöresinde değişik

zamanlarda hastalanıp ölen 14 koyun ve 1 keçinin parazitolojik muayenesinde tespit edilen piroplasm formların *T. hirci* (*T. lestoquardi*) olduğu ifade edilmiş (78), Türkiye genelini kapsayan başka bir çalışmada, koyun ve keçilerde *T. ovis* enfeksiyonlarının belirlendiği, keçilerdeki parazitin *T. hirci* (*T. lestoquardi*) olabileceği belirtilmiştir (79). Orta Anadolu'da yapılan bir çalışmada, klinik babesiosisli 579 koyunun % 18,26'sının, sağlıklı görünümlü 236 koyunun % 59'unun ve 77 keçinin % 31'inin *T. recondita* (*T. ovis*) ile enfekte olduğu bildirilmiştir (17). Kayseri yöresinde koyunlarda % 18,44 keçilerde % 6 (76), İç Anadolu bölgesinde koyunlarda % 59,7, keçilerde % 31,1 (76), Malatya ve Güneydoğu Anadolu'nun bazı illerinde koyun ve keçilerde % 1- 4 oranında theileriosisin yaygın olduğu bildirilmiştir (22). Çankırı yöresinde klinik semptom göstermeyen koyunlar ve Ankara keçileri üzerinde yapılan mikroskopik kan muayenelerinde, 128 koyunun 35'inde (% 27,35), 66 keçinin 6' sında (% 9,09) *Theileria* spp.'nin tespit edildiği bildirilmiştir (33). Elazığ yöresinde *T. ovis*' in varlığının belirlenmesi için 103 koyun 61 keçi toplam 164 küçük ruminant üzerinde yapılan bir araştırmada mikroskopik muayene ile koyunların % 38,83' ünde *Theileria* spp. piroplasm formları tespit edilirken, keçilerin hiçbirinde bu etkene rastlanmamıştır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile aynı çalışmada, koyunların % 67,96' sında, keçilerin % 1,63' ünde *T. ovis*' in tespit edildiği bildirilmiştir (76).

Doğu ve Güneydoğu bölgelerinde PZR ve mikroskopik muayene ile *T. ovis* ve *T. lestoquardi*' nin araştırılması yapılmış; Malatya, Muş, Erzincan, Erzurum, Iğdır, Diyarbakır ve Mardin de toplam 677 koyun, 142 keçi üzerinde yapılan çalışmada mikroskopik muayenede koyunların % 18,29'unda, keçilerin % 2,88'inde *Theileria* spp. piroplasm formları belirlenmiştir. PZR tetkiklerinde koyunların %58,79'unda keçilerin % 11,27' sinde *T. ovis* tespit edilirken *T. lestoquardi* bulunamamıştır (81).

Kayseri yöresinde RLB ile 110 koyunda yürütülen çalışmada *T. ovis*'in prevalansı %32,4 olarak saptanmıştır (82). Kayseri'nin Yeşilhisar yöresinde RLB metoduyla gerçekleştirilen başka bir çalışmada koyun ve keçilerde *T. ovis*, prevalansı sırasıyla %48 ve %17 olarak tespit edilmiştir (83).

Türkiye'nin doğusunda klinik semptom göstermeyen koyunlar ve keçiler üzerine RLB tekniğiyle yapılan bir araştırmada *T. ovis* %34,56, *T.sp.MK* % 1,30, *T.sp.OT3* %0,43 olarak tespit edilmiştir (48).

Bu çalışmada ise mikroskopik olarak 300 keçinin 1 (%0,33)'inde *Babesia* spp. bulunmuş, *Theileria* spp. tespit edilememiştir. RLB testinde ise 300 kan numunesinin 4'ünde (%1,33) *B. ovis*, 1'inde (0,33) ise *T. ovis* olarak tespit edilmiştir. Diğer *Babesia* ve *Theileria* türlerine ise rastlanmamıştır. Saha şartlarında babesiosis in koyunlarda keçilerden daha yaygın olduğu bildirilmiştir (119). Koyun ve keçilerde yürütülen çalışmalarda *Babesia* ve *Theileria* türlerinin prevalansının keçilerde koyunlara oranla oldukça düşük olduğu saptanmıştır (40). Bu durumun büyük oranda koyun ve keçilerin meradaki davranış farklılıkları ve çalışmaların yürütüldüğü yörelerdeki mevcut koyun ve keçi popülasyonları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Keçilerdeki prevalans değerleri dikkate alındığında bu çalışmadan elde edilen bulgular genel hatları ile daha önce yapılmış çalışmalarla paralellik arz etmektedir. Buna karşın *T.ovis*'in prevalansı diğer çalışmalara göre daha düşük çıkmıştır. Prevalans değerlerindeki bu farklılıkların parazitlerin epidemiyolojisi, vektör kenelerin mevsimsel aktiviteleri ve parazitlerle enfeksiyonu, konakların vektör kenelerle enfestasyonu, yörelerin farklı iklimsel ve ekolojik şartlarına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Babesia ve *Theileria* enfeksiyonlarında yaş ve cinsiyetin hastalık üzerine etkisi olmadığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (40, 120, 121). Bu çalışmada da daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak yaş ve cinsiyetin enfeksiyon üzerine istatistiksel anlamda etkisinin önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Sonuç olarak bu çalışmayla Kahramanmaraş merkeze bağlı belde ve köylerde keçilerde mikroskopik muayene ile *Babesia* spp.'in prevalansı %0,33 *Theileria* spp.'nin % 0 olarak tespit edilirken, RLB ile *B.ovis* ve *T. ovis*' in prevalansı sırası ile % 1,33 ve % 0,33 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, Kahramanmaraş yöresinde, vektörleri de kapsayan benzeri moleküler parazitolojik kapsamlı araştırmaların yapılmasına ihtiyaç olduğunu ortaya koymuştur.

6. KAYNAKLAR

1. İnci A, İa A, Albasan H, Babesia Enfeksiyonlarında İmmunite. Ed. Özcel M.A, Turgay N, İnci A, Köroğlu E. Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji İzmir 2007; ss.508-515
2. İnci A, akmak A, Karaer Z. ve ark. Kayseri Yöresinde Sığırlarda Babesiosis'in Seroprevalansı. Türk J Vet. Anim. Sci. 2002; 26:134-135
3. İa A. Sığırlarda Bazı Babesia Türlerinin Reverse Line Blotting ve İndirekt Floresan Antikor Testi ile Karşılaştırmalı Tanısı Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ankara 2003
4. Brands, S.J. (comp.) 1989-present. The Taxonomicon. Universal Taxonomic Services, Amsterdam, The Netherlands. Erişim: <http://taxonomicon.taxonomy.nl/>, Erişim tarihi: 12.08.2009.
5. Melhorn H, Schein E. The iroplasm life cycle and sexual stages. Advances in Parasitology; Ed: Baker JR, Müller R. Academic Press 1984; pp 69-89.
6. Friedhoof KT. Transmission of *Babesia* in Babesiosis of Domestic Animals and Man Ed: Ristic M. Boca Raton Florida CRC Press 1988; pp 23-52
7. Karaer Z, Nalbantoğlu S. Protozoon Hastalıklarında Tedavi. Ed: Burgu A, Karaer Z. Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıklarında Tedavi. İzmir 2005; ss 14-18.

8. Levine ND. Veterinary Protozoology Iowa State University Press Ames 1st Edition 1985; pp 291-312
9. Aydın L, Bakirci S. Geographical distribution of ticks in Turkey. Parasitol Res 2007; 101 (Suppl 2): 163-166.
10. Soulsby E.J.L. Helminths Artropods and Protozoa of domesticated Animals Bailliere Tindall London 1986
11. Mehlhorn H. (2000). Encyclopedic Reference of Parasitology. Erişim: <http://parasitology.informatik.uni-wuerzburg.de/login/frame.php>, Erişim tarihi: 03 Ağustos 2009.
12. Hashemi-Fesharki R. Tick-borne diseases of sheep and goats and their related vectors in Iran. Parasitologia 1997;39:115-117.
13. Samuel A, Raif M. Koyun piroplazmozuna karşı aşı, Türkiye’de piroplazmozlar ve beygir piroplazmoz. İstanbul 1930. Milliyet matbası.
14. Lestoquard M., Piroplasmoslar. *Baytari Mecmua* 1931; 9: 8-9.
15. Gören S, Yetkin R. Tek tırnaklılarda, sığırdada, koyunda, keçide ve köpekte piroplazmoz. *Milli Mü. Baytar Bakt. Serum ve Aşı Evi Yay.* 1935.
16. İnci A, Karaer Z, İça A. Kayseri Yöresinde Koyun ve Keçilerde Babesiosis. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2002;16(1): 79-83
17. Göksu K, Yerli koyunlarımızda *Babesidae* ve *Theileridae*’lerin epizootiyolojik durumlarıyla biyolojilerine dair araştırmalar A.Ü.Vet.Fak.Yay 1976; ss 205
18. Taşcı S. Van bölgesinde sığır ve koyunlarda görülen kene türleri ile bunların taşıdığı kan parazitleri arasındaki ilişkiler. A.Ü.Vet.Fak. Derg. 1989;36(1):53-63
19. Kurtpınar H. Koyun ve keçi piroplasmosisinin Babesan ve Acaprin ile tedavisi. *Türk Vet Hek Dern Derg.*, 1953; 23 (76-77): 453-456.
20. Kurtpınar H. Erzurum, Kars, Ağrı vilayetlerinde sığır, koyun ve keçilerin yaz aylarına mahsus parazitleri ve bunların doğurduğu hastalıklar. *Türk Vet Hek Dern Derg.* 1956; 26: 3226-3232.
21. Değer S. Van ilinde koyunlarda babesiosisin seroepidemiolojisi üzerine araştırmalar. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 1990.
22. Özer E, Erdoğan SZ, Köroğlu E, ve ark. Malatya ve Güneydoğu Anadolu illerinde sığır, koyun ve keçilerde bulunan kan parazitleri ve yayılışları. *Turk J Vet Am Sci.*, 1993;17 (3): 209-215.
23. Dumanlı N, Köroğlu E, Düzgün A, ve ark. Elazığ yöresinde koyunlarda *Babesia ovis*’in prevalansı. *Turk J Vet Anim Sci.* 1997;21:183-186.

24. Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, ve ark. Status of tick borne diseases in sheep and goats in Turkey. *Parassitologia*. 1997; 39: 153-156.
25. Aktaş M, Düzgün A, Babür C. Malatya yöresinde koyunlarda *Babesia ovis*'in seroprevalansı. *Turk J Vet Anim Sci*. 2001;25 (3): 241-243.
26. Biçek K, Değer S. Van ve yöresi koyunlarında Babesiosis'in ELISA ile teşhisi. *Y Y Üniv Sağ Bil Derg*. 2001;7: 27-31.
27. Özcan CH. Ankara ve civarında evcil hayvanlarda görülen *Piroplasmose* vakaları ve tedavileri üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Basımevi, 1961; ss 10-106.
28. Anon 1. Anaplasmosis, piroplasmosis and theileriosis amongst cattle and sheep in Turkey, and the control of the disease. *Bull. Off. Int. Epiz*. 1976;86: 27-33.
29. Sevinç F. Konya yöresi koyunlarında *B. ovis*' in IFAT ve ELISA ile teşhisi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya 1996.
30. Yukarı BA, Karaer Z. Babesiosis. *Vet Hek Dern Derg*. 1996; 67: 46-54.
31. Sevinç F, Dik B. Konya Yöresindeki Koyunlarda *Babesia Ovis*'in ELİSA İle Teşhisi. *Vet Bil Derg*. 1996;12 (2): 73-79.
32. Çakmak A, İnci A, Karaer Z. Çankırı yöresindeki koyun ve keçilerde *Babesia ovis*'in seroprevalansı. *T Parazitol Derg*. 1998; 22: 73-76.
33. İnci A, Yukarı BA, Sayın F. Çankırı yöresinde bazı koyun ve keçi sürülerinde babesiosis ve theileriosis etkenlerinin mikroskopik kan muayenesi ile araştırılması. *A Ü Vet Fak Derg*, 1998; 45: 105-113.
34. Çakmak A, Dinçer Ş, Karaer Z. Samsun yöresinde koyunlarda *Babesia ovis*'in serodiagnozu üzerinde araştırmalar. *A Ü Vet Fak Derg*. 1991;38: 242-251.
35. Karatepe M, Karatepe B, Düzgün A, ve ark. Amasya yöresinde koyunlarda babesiosis. 13. Ulusal Parazitol. Kong. Konya. 8-12 Eylül 2003; ss 162.
36. Güralp N, Sayın F, Tiğın Y. Texel merinos ve kıvrıcık koyunları ile melezlerinde görülen parazit türler, bunların enfeksiyon oranları ve savaşı çareleri. *A Ü Vet Fak Derg*. 1975;22:1-7.
37. Özkoç Ü. Koyunlarda *B. ovis* enfeksiyonunun indirekt Floresan Antikor Tekniği ile serolojik teşhisi üzerinde araştırma. *Pendik Vet Mikrobiyol Enst Derg*. 1979;11: 70-83.
38. Düzgün A. Çanakkale yöresinde koyunlarda *Babesia ovis*'in seroepidemiolojisi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1997.
39. Emre Z, Düzgün A, İriadam M, ve ark. Seroprevalence of *Babesia ovis* in Awassi sheep in Urfa, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*. 2001; 25: 759-762.
40. Aktas M, Altay K, Dumanli N. Determination of prevalence and risk factors for infection with *Babesia ovis* in small ruminants from Turkey by polymerase chain reaction. *Parasitol Res*. 2007;100(4): 797-802.

41. Karatepe M, Karatepe B, Çakmak A, ve ark. Niğde yöresinde koyun ve keçilerde *Babesia ovis*'in prevalansı. Turk Parazitol Derg, 2003;27:18-20.
42. Saraylı H, İnci A, İça A, ve ark. Yeşilhisar Yöresindeki Koyun ve Keçilerde *Babesia* Etkenlerinin Reverse Line Blotting (Rlb) Yöntemiyle Araştırılması, Erc Üniv Sağ Bil Derg. 2006;15 (3): 181-188.
43. Düzgün A, Alabay M, Çerçi H, ve ark. A serological study for babesiosis in cattle in Turkey using the ELISA test. IAEA-TECDOC 1991;657:175-177.
44. Sevinç F, Uslu U, Dik B, ve ark. Konya yöresi keçilerinde *Babesia ovis*'in IFA (İndirekt Fluoresan Antikor) testi ile teşhisi. T Parazitol Derg. 2000; 24(1): 172-175.
45. Çiçek H, Düzgün A, Emre Z, ve ark. Seroprevalence of *Babesia ovis* in sheep around Afyon. Turk J Vet Anim Sci. 2004; 28: 683-686.
46. İca A, Vatanserver Z, Yıldırım A, ve ark. Investigation of ovine blood protozoa by reverse line blotting in the Kayseri region. 2. Babesia World Summit, Palermo, Italy, Parassitologia 2007;49 (1): 90.
47. İnci A, İça A, Yıldırım A, ve ark. Orta Anadolu'da Küçük Ruminantlarda *Babesia* ve *Theileria* Türlerinin Reverse Line Blotting ile Saptanması, Turk J Vet Anim Sci., 2009; Baskıda.
48. Altay K, Dumanli N, Aktas M. Molecular identification, genetic diversity and distribution of *Theileria* and *Babesia* species infecting small ruminants. Vet Parasitol. 2007;147: 161-165.
49. Aktaş M, Altay K, Dumanlı N. Development of a polymerase chain reaction method for diagnosis of *Babesia ovis* infection in sheep and goats. Vet Parasitol 2005;133: 277-281.
50. Altay K, Aktas M, Dumanli N. Detection of *Babesia ovis* by PCR in *Rhipicephalus bursa* collected from naturally infested sheep and goats. Res Vet Sci. 2008 85(1): 116-119.
51. Altay K, Aktas M, Dumanli N, ve ark. Evaluation of a PCR and comparison with RLB for detection and differentiation of *Theileria* sp. MK and other *Theileria* and *Babesia* species of small ruminants. *Parasitol Res.* 2008;103: 319-323
52. Karagenc T, Eren H. *Theileria anulata* Enfeksiyonlarında İmmunite. Ed. Özcel M.A, Turgay N, İnci A, Köroğlu E. Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji İzmir 2007; ss.516-523
53. Mimoğlu M. Theileriosis' in Tarihçesi, 4. Ulusal Parazitoloji Kongresi Bildiri Kitabı, Uludağ Üniversitesi Bursa 24-26 Eylül 1985; ss. 1-4
54. Barnett, S.F. *Theileria*, in Parasitic Protozoa ed. by Kreier, J.P., Vol. IV. Academic press, London 1977.
55. Mugeru GM, Mworio GM, Munyua WK. Treatment of East Coast fever with aureomycin. Bull Epizoot Dis Afr. 1973;21:501-5.

56. Anon 2. Report. International Laboratory for on Animal Diseases, Ilrad, Nairobi Kenya 1984; pp
57. Friedhoff, K.T. und Liebisch, A. *Piroplasma* infections of domestic animals. Tierärztl. Prax. 1978;6:125 -139.
58. Schein, E., Mehlhorn, H, Warnecke M. Protistologica, I. XIV, 1978: 3;337 -348.
59. Sayın F. Theileriosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını. 1985;5
60. Schein, E.,Mehlhorn, H.; Warnecke, M. Fine structural study on the erythrocytic stages of *Theileria annulata* (Dschunkowsky, Luhs, 1904). Tropenmed. Parasit. 1977; 28: (3), 349-360.
61. Hoosmand-Rad P, Havva NJ. Transmission of *Theileria hirci* in sheep by *Hyalomma anatolicum anatolicum*. Trop Anim Health Prod 1973;5:103-109.
62. Sisodia RS, Gautom OP. Experimental cases of *Theileri hirci* infection in sheep and goats. Ind J Anim Sci 1983;53: 162-166.
63. Salih DA, ElHusseini AM, Hayat M, et al. Survey of *Theileria lestoquardi* antibodies among Sudanese sheep. Vet Parasitol 2003;111(4): 361-7.
64. Jansen BC, Neitz WO. A discussion on the clasification of *Theileridae*. J Ond Vet Res 1956;27: 7-18.
65. Neitz WO. Theileriosis, Gondriosis and Cytauxozoonoses: A review. Onderstepoort J Vet Res 1957;27: 275-430.
66. Gill HS, Bhattacharyulu Y, Gill BS. Attempts to transmit *Theileria ovis* through the ticks *Haemaphysalis bispinosa* and *Rhipicephalus haemaphysalis*. Trop Anim Health Prod 1980;12: 61.
67. Uilenberg G.. *Theileria* Species of Domestic Livestock. "Advences in the Control of Theileriosis" AD Irvin, Cunningham MP ve Young AS (Editörler). Martinus Nijhoff Publishers 1981; pp
68. Alani AJ, Herbert IV. Pathogenesis of infection with *Theileria recondita* (Wales) isolated from *Haemaphysalis punctata* from North Wales. Vet Parasitol. 1988; 4: 293-301.
69. Sayın F, Yukarı BA, Nalbantoğlu S. ve ark. (1999). Türkiye'de koyun ve keçilerde theileriosisin epidemiyolojisi üzerine araştırmalar. Tübitak projesi son raporu. Proje no: VHAG-1339.
70. Aktaş M, Altay K, Dumanlı N. PCR-based detection of *Theileria ovis* in *Rhipicephalus bursa* adult ticks. Vet Parasitol 2006; 140:259-263.
71. Uilenberg G, Schreuder BEC. Studies on *Theileridae* (sporozoa) in Tanzania. Tick transmission of *Haematoxeneus veliferus*. Tropenmedizin and Parasitologic 1976; 25: 207-216.

72. Yin H, Schnittger L, Luo J, et al. Ovine theileriosis in China : a new look at old story. Parasitol Res.2007; 101:191-195
73. Mehlhorn, H., Weber, G., Schein, et al. Electron microscope studies on development stages of *Theileria annulata* (Dschunkowsky, Luhs, 1904) in the intestine and haemolymph of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844). Z. Parasitenk. 1975;48: 137-150.
74. Schein, E. On the life cycle of *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) in the midgut and hemolymph of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844). Z. Parasitenk. 1975;47:165-167.
75. Mehlhorn, H. and Schein, E. Electron microscopic studies of the development of kinetes in *Theileria annulata* Dschunkowsky & Luhs, 1904 (Sporozoa, Piroplasmae).J. Protozool. 1977; 24 (2): 249-257.
76. Aktaş M, Dumanlı N, Altay K. Elazığ Yöresinde Koyun ve Keçilerde *Theileria ovis*' in Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2005; 29 (1) : 17-21
77. Altay K. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde Koyun ve Keçi Theileriosisinin Mikroskopik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2006.
78. Bauman R. Die kleinasiatische schafttheileriose. Berliner and Meunchener Tieraerztliche Wochenschrift 1939;30: 469-474.
79. Hoffmann G, Horchner F, Schein E, et al. Saisonales auftreten von zecken und piroplasmen bei haustieren in der asiatischen provinzen der Türkei. Berl und Munch Tierarztl Wschr 1971; 84: 152-156.
80. Lestoquard F, Ekrem I. Les piroplasmoses du mouton en Turquie. Bull Soc Pathol Exot 1931;2: 822-826.
81. Altay K, , Aktaş M, Dumanlı N. *Theileria* Infections in Small Ruminants in East and Southest Anatolia Türkiye Parazitoloji Dergisi 2007; 31 (4) : 268-271.
82. İça A, Yıldırım A, İnci A.Kayseri yöresinde koyunlarda kan protozoonlarının Reverse Line Blotting Yöntemi ile Araştırılması. Türkiye XIV Ulusal Parazitoloji Kongresi Kitabı, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir 18-25 Eylül 2005, ss 161
83. Saraylı Öz H. Yeşilhisar Yöresindeki Koyun ve Keçilerdeki Babesia Etkenlerinin Reverse Line Blotting (RLB) Yöntemiyle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kayseri 2006.
84. Sayın F, Dumanlı N. Elazığ Bölgesinde Evcil Hayvanlarda görülen Kene Türleri ile ilgili Epizootiyolojik Araştırmalar A. Ü. Vet. Fak. Derg. 29(3-4): 344-362

85. Alkan Z, Özbek Y, Özensoy S. ve ark. Moleküler Biyolojik Yöntemler Ed: Özcel MA, Altıntaş N. Parazit Hastalıklarında Tanı İzmir 1997 :373-411
86. Böse R, Jacobson RH, Gale KR. et al. An improved ELISA for the detection of antibodies against *Babesia bovis* using either a native or a recombinant *B. bovis* antigen. Parasitol Res.1990;76:648-652
87. Todorovic RA, Carson C A. Methods for measuring the immunological response to *Babesia* In ;Babesiosis Ed:Ristic M,Kreier JP Newyork Akademik Pres 1981; pp 381-409
88. Figueroa JV, Chieves LP, Johnson GS. et al. Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood. Vet. Parasitol.1993;50:69-81
89. Comes AM, Humbert JF, Cabaret J. et al. Using molecular tools for diagnosis in veterinary parasitology Vet.Res. 1996;27:333-342 .
90. Sparagano O. Molecular diagnosis of *Theileria* and *Babesia* species. J. Vet. Parasitol. 1999;13(2):83-92
91. Arda M. Nükleik asitlerin invitro amplifikasyon yöntemleri. Temel Mikrobiyoloji Genişletilmiş 2. Baskı Medisan Yayınları Ankara 2001;58:483-493
92. Randal K, Saiki BS, Chu-an chan PD. et al. Diagnosis of sickle cell anemia and β Thalassemia with enzymatically amplified DNA and nonradio active allele specific oligonucleotide probes.N. Engi. J.Med.1988;309 (9): 537-541
93. Rijpkema SG, Molkenboer MJ, Schouls LM, et al. Simultaneous detection and genotyping of three genomic groups of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Dutch *Ixodes ricinus* ticks by characterization of the amplified intergenic spacer region between 5S and '3 S rRNA genes. J. Clin. Microbiol 1995;33: 3091-3095
94. Kamerbeek J, Schouls LM, et al. Simultaneous detection and differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. J.Clin. Microbiol 1997;35 (4): 907-914
95. Gubbels MJ, de Vos S, Van der Weide M. et al. Simultaneous detection of bovine *Theileria* and *Babesia* species using Reverse Line Blotting hybridization, J.Clin.Microbiol 1999;37: 1782-1789
96. Ceci L, Jongejon F, Carelli G. et al. Identification of *Theileria buffelli orientalis* and *Babesia bigemina* in adult cattle using molecular techniques and study of changes in blood parameters. Parasitologia 1999;41:31-32

97. Schouls LM., Van de Pol I., Rijpkema SG. et al. Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdoferi* sensu lato and *Bartonella* species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks. *J.Clin.Microbiol* 1999;37 (7): 2215-2222
98. Georges K, Loria GR, Ruh S.. et al. Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridization with a note on the distribution of ticks in Sicily. *Vet.Parasitol* 2001;99:273-286
99. Beker C, de Vos S, Taoufik A. et al. Simultaneous detection of *Ehrlichia ruminatum* in *Amblyomma variegatum* ticks by reverse line blot hybridisation. *Vet. Microbiol.* 2002 89:223-238
100. Lunemann JD, Zarges S, Priem S. et al. Rapid typing of *Borrelia burgdoferi* sensu lato species in specimens from patients with different manifestations of Lyme borreliosis. *J.Clin.Microbiol* 2001;39:1130-1133
101. Böse R, Jongensen WK, Dalglresh RS. et al. Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. *Vet.Parasitol* 1995; 57:61-64
102. Böse R, Peyman B. Diagnostic of *Babesia caballi* infections in horses by Enzyme-Linked immunosorbent assay (ELISA) and Western Blot. *Int.J.parasitol* 1994;24:341-346
103. Papadopoulos B, Perie NM, Uilenberg G. Piroplasms of domestic animals in the Macedonia region of Greece 1. Serological cross-reactions. *Vet.Parasitol* 1996 ;63: 41-56
104. Ludford CG, Hall WT.K, Sulzer AJ. et al. *Babesia argentina*, *Plasmodium vivax* and *P.falciparum* antigenic cross reactions. *Exp. Parasitol* 1972;24:427-335
105. Kuttler KL. Chemotherapy of Babesiosis; A review. In *Babesiosis* Ed:M.Ristic J.P.Kreier New York Academic Press 1981; pp 65-85
106. Pipano E, Hadani A, Control of bovine babesiosis. In *Malaria and Babesiosis*, Ed: M.Ristic P. Ambroise-Thomas J. Kreier Dordrecht Boston Lancaster Martinus Nijhoff Publishers 1984; pp 263-303
107. Melhorn H. Encyclopedic reference of parasitology Diseases, treatment therapy. Berlin: Springer-Verlag 2001; pp 61-71
108. Şaki C.E, Özer E, Aytekin Ö. Koyun-Keçi Kenelerine Karşı Saha ve Laboratuvar Şartlarında % 1'lik Flumethrin (Flutick® P.O.)'in Etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2008; 22: 279-281
109. Yukarı DA, Karaer Z. Babesiosis. *Vet.Hek.Der.Derg.* 1996, 67:46-54

110. Rommel M. Protozoeninfektionen der Wiederkäuer. Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Körting W, Schnieder T. eds. Veterinärmedizinische Parasitologie. 5. Vollständig neubearbeitete Auflage, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin 2000; pp 121-191.
111. Nagora D, Garcia Sammartin J, Garcia Perez AL. et al. Identification, genetic diversity and prevalence of *Theileria* and *Babesia* species in sheep population from Northern Spain International Journal for parasitology 2004;34: 1059- 1067
112. Schnittger L, Yin H, Oi B. et al. Simultaneous detection and differentiation of *Theileria* and *Babesia* parasites infecting small ruminants by reverse line blotting. Parasitol Res 2004;92:189-196
113. Figueroa JV, Benning .GM. Nucleic acid probes as a diagnostic method for tick-borne hemoparasites of veterinary importance. Vet.Parasitol. 1995, 75:75-92
114. Almeria S, Castella J, Ferrer D, Ortuno A, Estrada-pena A et al. Bovine piroplasms in Minorca (Balearic Islands, Spain): a comparison of PCR-based and light microscopy detection Vet:Parasitol 2001, 99:249-259
115. d'Oliveira C, Van Der Weide M, Habella MA. et al Detection of *Theileria annulata* in Blood samples of carrier cattle by PCR. J. Clin. Mikrobiol 1995;33:2665-2669.
116. Anon 3. Bovine Babesiosis. In: OIE Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. Off. Int. Epizot., Paris 1996; pp 305-312
117. Bishop R, Sohanpal B, Kariuki DP, et al. Detection of carrier state in *Theileria parva* infected cattle by the Polymerase Chain reaction Parasitol 1992;104:215-232
118. Martin-Sanchez J, Viseras J, Adroher FJ. et. al. Nested polymerase chain reaction for detection of *Theileria annulata* and comparison with conventional diagnostic techniques: its use in epidemiology studies. Parasitol Res. 1999;85:243-245
119. Friedhoff KT. Tick-borne diseases of sheep and goats caused by *Babesia*, *Theileria* or *Anaplasma* spp. Parasitologia, 1997;39:99-109.
120. Razmi GR, Naghibi A, Aslani MR. et al. An epidemiological study on ovine babesiosis in the Mashhad suburb area, province of Khorasan, Iran. Vet Parasitol, 2002; 108: 109-115.
121. Razmi GR, Naghibi A, Aslani MR. et al. An epidemiological study on *Babesia* infection in small ruminants in Mashhad suburb area, province of Khorasan, Iran. Small Rumin Res, 2003; 50: 39-44.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ DENEY HAYVANLARI
ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 13.02.2008

Toplantı Sayısı: 02

Karar No: 08/06

Etik kurul toplantısı

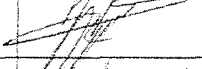



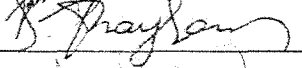
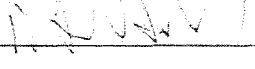
13.02.2008

tarihinde Erciyes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik

Kurul Başkanlığı'nda

Prof.Dr. Zübeyde Gündüz

başkanlığında gerçekleştirilmiştir.

Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	
Zübeyde Gündüz	Prof. Dr.	Tıp Fakültesi	
Harun Ülger	Doç.Dr.	Tıp Fakültesi	
Can Küçük	Doç.Dr.	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Doç.Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Tancan Uysal	Doç.Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
Davut Bayram	Öğrt.Gör.Dr.	Veteriner Fakültesi	
Halit Erkiletlioğlu	Diş Hekimi		
Halil Tekiner	Eczacı		

Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Yard.Doç.Dr. Anıl İça'nın "Kahramanmaraş Yöresinde Keçilede görülen babesia ve theileria türlerinin reverse line blotting yöntemiyle araştırılması." adlı araştırması incelenerek, çalışmasının yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.

Dosyada sunulan dökümanlar;

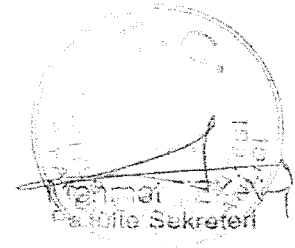
Tarih : 13.02.2008

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr. Zübeyde Gündüz

Etik Kurul Başkanı İmzası



2008 02 13



ÖZGEÇMİŞ

Zahid Emre KOCABEYOĞLU. 1979 yılında Samsun'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini 1996 yılında tamamladı. 1997 yılında girdiği İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 2002 yılında mezun oldu. İbrahim Ethem Ulagay ilaç firmasında tıbbi mümesil, Kayseri Yaşam Veteriner Polikliniğinde Veteriner Hekim, Gürün İlçe Tarım Müdürlüğünde Hükümet Veteriner Hekimi olarak çalıştı. Tarım ve Köyişleri Bakanlığının düzenlemiş olduğu çeşitli seminer, toplantı ve meslek içi eğitim kurslarına katıldı. Halen Kahramanmaraş İl Tarım Müdürlüğü Hayvan Sağlığı Şubesinde Veteriner Hekim olarak görev yapan Zahid Emre KOCABEYOĞLU evli ve bir çocuk babasıdır.