

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PARAZİTOLOJİ (VET.) ANABİLİM DALI

171695

**ADANA YÖRESİ ATLARINDA BABESİA EQUİ VE  
BABESİA CABALLİ'NİN YAYILIŞININ MİKROSKOBİK  
VE SEROLOJİK (ELİSA) YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Cemal KURT

**Danışman**

Doç. Dr. Mehmet YAMAN

HATAY – 2005

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PARAZİTOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

ADANA YÖRESİ ATLARINDA BABESİA EQUI VE  
BABESİA CABALLI'NİN YAYILIŞININ MİKROSKOBİK  
VE SEROLOJİK (ELISA) YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Cemal KURT

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 26/12/2005 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

S.B.E. Yön. Karar tarih ve No:

**Tez Jürisi:** Jüri Başkanı:

Prof. Dr. Bilal DİK (İmza)

Üye (Danışman):

Doç. Dr. Mehmet YAMAN (İmza)

Üye:

Yrd. Doç. Dr. Galip KAYA (imza)

Yedek Üye:

Yrd.Doç.Dr. Ramazan DURGUT (İmza)

**İÇİNDEKİLER**

1.	ÖZET .....	1
2.	SUMMARY .....	2
3.	GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER .....	3
3.1.	GİRİŞ .....	3
3.2.	GENEL BİLGİLER .....	5
3.2.1.	Tanımı .....	5
3.2.2.	Atlardaki <i>Babesia</i> Türlerinin Sınıflandırılması .....	5
3.2.3.	Tarihçe .....	6
3.2.3.1.	Atlardaki <i>Babesia</i> Türlerinin Dünyada Yayılışı .....	6
3.2.3.2.	Atlardaki <i>Babesia</i> Türlerinin Türkiye’de Yayılışı .....	7
3.2.4.	Morfoloji .....	8
3.2.5.	Vektörler .....	10
3.2.6.	Biyoloji .....	11
3.2.7.	Bağışıklık .....	12
3.2.8.	Epidemiyoloji .....	13
3.2.9.	Patogenesis .....	14
3.2.10.	Semptomlar .....	15
3.2.11.	Nekropsi Bulguları .....	16
3.2.12.	Teşhis .....	16
3.2.12.1.	Mikroskopik muayene .....	17

3.2.12.2.	Serolojik Testler ve Duyarlılıklarının Karşılaştırılması .....	18
3.2.12.2.A	Komplement Fiksasyon Testi (KFT) .....	19
3.2.12.2.B.	İndirek Fluoresan Antikor Test (İFAT)) .....	19
3.2.12.2.C.	Lateks Aglutinasyon Testi (LAT).....	20
3.2.12.2.D.	Enzim Linked İmmunosorbent Assay (ELİSA) .....	20
3.2.12.3.	Moleküler Biyolojik Yöntemler .....	21
3.2.13	Tedavi .....	22
3.2.14.	Korunma .....	22
4.	<b>MATERYAL VE METOD</b> .....	24
4.1.	Saha Çalışmaları .....	24
4.2.	Laboratuvar Çalışmaları .....	24
4.2.1.	Toplanan Kenelerin Tür Teşhisi .....	24
4.2.2.	Kan frotilerinin Boyanması ve Muayenesi .....	24
4.2.3.	Serumların Elde Edilmesi .....	25
4.2.4.	ELİSA Testinde Kullanılan Alet ve Ekipmanlar .....	25
4.2.5.	ELİSA testinin yapılışı .....	26
4.2.6.	ELİSA testinin değerlendirilmesi .....	28
5.	<b>BULGULAR</b> .....	30
6.	<b>TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	34
7.	<b>KAYNAKLAR:</b> .....	38
8.	<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	46

**RESİM LİSTESİ**

Resim 1. *Babesia equi*'nin eritrosit içindeki bölünme formları

Resim 2. *Babesia caballi*'nin eritrosit içerisindeki bölünme formları

Resim 3. *Babesia* türlerinin kenede ve konakçıda gelişim şeması

Resim 4. *Babesia equi*'de ELİSA pleytinde pozitif ve negatif kanallar

Resim 5. *Babesia caballi*'de ELİSA pleytinde negatif kanallar

Resim 6 a. *Hyalomma marginatum* dişi; dorsal ve ventralden görünüm.

Resim 6 b. *Hyalomma marginatum* erkek; dorsal ve ventralden görünüm.

Resim 7. *Rhipicephalus turanicus* dişi, dorsal ve ventral görünümü.

**TABLO LİSTESİ**

Tablo 1. Atlardaki *Babesia* etkenlerine vektörlük yapan kene türleri

Tablo 2. Adana yöresinde cELISA testi ile *B. equi* seropozitifliğinin ilçelere göre dağılımı

Tablo 3. Atların yaş gruplarına göre *B. equi*'nin cELISA ile görülme oranları



## 1. ÖZET

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PARAZİTOLOJİ (VET.) ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
HATAY-2005  
Cemal KURT

### **Adana Yöresi Atlarında *Babesia equi* ve *Babesia caballi*'nin Yayılışının Mikroskopik ve Serolojik (ELİSA) Yöntemlerle Araştırılması**

Bu çalışma ile, 2004 yılı Haziran-Ekim ayları arasında Adana'nın 8 ilçesinden (Merkez-Yüreğir, Kozan, Feke, Saimbeyli, Aladağ, Pozantı, Karaisalı ve Ceyhan) rasgele seçilen farklı yaş gruplarındaki 120 erkek ve 100 dişi olmak üzere toplam 220 atta serolojik (cELİSA) ve mikroskopik yöntemlerle *Babesia equi* ve *B. caballi*'nin tespiti ve bu türleri nakleden vektör kene türlerinin tespiti amaçlanmıştır. Çalışmanın materyalini atların kulak uçlarından ve vena jugularislerinden elde edilen kan örneklerinden hazırlanan froti ve serumlar oluşturmuştur. Sahada hazırlanan sürme kan frotileri metil alkolle tespit edildikten sonra Giemsa ile boyanmış ve mikroskopta *B. equi* ve *B. caballi* yönünden incelenmiştir. Ancak incelenen frotilerin hiçbirisinde *B. equi* ve *B. caballi*'nin piroplasm formlarına rastlanmamıştır. cELİSA ile yapılan serolojik muayenede, ileri yaş grubundaki atlarda daha fazla olmak üzere %56.8 oranında *B. equi* antikoru saptanmış, *B. caballi* antikoru ise tespit edilememiştir. Muayene edilen atların üzerinden toplanan kenelerin, babesiosisin bilinen vektörleri olan *Hyalomma marginatum* ve *Rhipicephalus turanicus* oldukları anlaşılmıştır. Sonuç olarak Adana yöresinde atlarda subklinik ve kronik *Babesia* enfeksiyonlarının yaygın olduğu ve portör atların belirlenmesinde serolojik testlerin mikroskopik yöntemlerden daha duyarlı olduğu anlaşılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** At, *Babesia equi*, *Babesia caballi*, froti, kene, cELİSA, Adana.

## 2. SUMMARY

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PARAZİTOLOJİ (VET.) ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
HATAY-2005  
Cemal KURT

### **The Investigation of the Prevalence of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Horses in Different Adana Province Analyzed by Microscopic and Serologic (ELISA) Methods**

This study was performed in different parts of Adana provinces (Centrum-Yuregir, Kozan, Feke, Saimbeyli, Aladağ, Pozantı, Karaisalı and Ceyhan) between June and October 2004. Samples were chosen randomly in different age and sexes. The aim of the study was to investigate to detect blood parasites and vector ticks of horses using cELISA and microscopic examinations.

Materials of the study were constituted serums and blood smears in the samples taken blood from the horses' vena jugularis and ear of the tips.

In this study, blood smears were stained with Giemsa stain, and then the samples were identified for *B. equi* and *B. caballi*. But no piroplasm form of *Babesia species* were found in all samples. Serological assessments by cELISA were revealed that *B. equi* antibodies were positive in 56.8 % of the samples analyzed. Most of them the older horses. However, *B. caballi* antibodies were not detected in the samples. It was also found that the ticks which were taken from horses were *Hyalomma marginatum* and *Rhipicephalus turanicus* species. It was concluded that subclinical and chronic *Babesia* infections were common in horses in different parts of Adana. Serologic method was found to be more sensitive than microscopic examination for the investigation of *Babesia* porter horses.

**Key words:** Horse, *Babesia equi*, *Babesia caballi*, blood smear, tick, cELISA, Adana.



### 3. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

#### 3.1. GİRİŞ

Dünyada son zamanlarda hızlı makineleşme ile birlikte atların hayatımızdaki öneminin giderek azaldığı düşünülmektedir. Fakat Türkiye'nin diğer kırsal yörelerinde olduğu gibi Adana ilinin kırsal bölgelerinde de halen yük taşıma, ulaşım ve tarım işlerinde atlardan istifade edilmekte ve önemini korumaktadır. Bunların yanı sıra sportif ve turizm amacıyla yetiştiriciliği yapılmakta, insan ve hayvan sağlığı için laboratuvarlarda serum üretiminde de kullanılmaktadır. Türkiye'de 1999 Devlet İstatistik Enstitüsü verilerine göre 333.000 at bulunduğu bildirilmektedir. Bunlardan 6.067 tanesi Adana yöresinde bulunmaktadır (Türkiye İstatistik Yıllığı, 2000).

Atların bakteriyel, viral ve paraziter hastalıklar açısından sağlıklı olmaması, ciddi performans kayıplarına ve hatta ölümlere bile yol açmaktadır. Bu nedenle diğer kontrollerin yanı sıra atlarda parazitolojik kontrollerin düzenli yapılması ve koruyucu tedbirlerin zamanında alınması gerekmektedir. Atlarda ciddi problemler oluşturan paraziter hastalıkların başında kan parazitleri gelmektedir. İklim ve mevsim özellikleri dolayısıyla kene aktiviteleri, Adana yöresi atlarında babesiosisin yaygın olduğu kanaatini uyandırmıştır. Balkaya (2004)'nın Akdeniz bölgesinin de yer aldığı Türkiye genelini kapsayan atlarda babesiosisin yaygınlığı üzerine yaptığı bir araştırmanın dışında, Adana'daki atlarda babesiosis ilgili herhangi bir çalışmanın verileri elde edilememiştir.

Babesiosis etkenlerinin teşhisi; klinik semptomlar, hematolojik bulgular ve perifer kan frotilerinin mikroskopik muayeneleriyle yapılmaktadır (Kaufmann 1996, Hailat ve ark 1997, Bashuriddin ve ark 1999, Martin 1999, Kumar ve ark 2003b, Güçlü 2003, Kaya 2003, Anonim 2004, Tamaki ve ark 2004, Boldbaatar ve ark 2005, Edwards ve ark 2005, Nalbantoğlu 2005). Akut enfeksiyonlarda teşhisin kolay olmasına karşın, latent seyirli olgularda hastalığın teşhisinde serolojik testlerden yararlanılmaktadır (Martin 1999,

Nicolaiewsky ve ark 2001, Xuan ve ark 2001a, Anonim 2004, Anonim 2005, Boldbaatar ve ark 2005). Komplemen Fikzasyon Testi (KFT) ve İndirek Flouresan Antikor Testi (IFAT) gibi serolojik muayeneler *B. equi* ve *B. caballi* enfeksiyonlarının tayininde yaygın olarak kullanılırlar. Bununla birlikte, bu testler, antikor düzeyi ve çapraz reaksiyonlardan dolayı sınırlı kaldığından (Xuan ve ark 2001c) son zamanlarda, bu testlere alternatif olarak rekombinant antijenlerin kullanıldığı ELİSA metodu önerilmektedir (Tanaka ve ark 1999, Xuan ve ark 2001a, Hirata ve ark 2003). *Babesiosis*'in teşhisinde invitro kültürler, Polimeraz Zincir reaksiyonu (PCR), Nested PCR ve Western Blotting (WB) gibi teknikler de kullanılmaktadır. Fakat seroloji dışında kalan metodlar son derece zahmetli, pahalı ve vakit alıcı olarak değerlendirilmektedir (Baldani ve ark 2004).

Bu çalışma ile Adana yöresinde babesiosisin yaygınlığının mikroskopik ve serolojik (cELİSA) yöntemlerle araştırılması, hastalığa neden olan türler ile hastalığın naklinde rol oynayan kene türlerinin tespiti amaçlanmıştır.

## 3.2. GENEL BİLGİLER

### 3.2.1. Tanımı

Babesiosis, tropikal ve subtropikal iklim bölgelerinde at, eşek, katır, zebra ve midilli gibi tektırnaklılarda *Babesia* türleri tarafından meydana getirilen, değişik kene türlerinin ergin ya da nimf formları ile nakledilen, akut, subakut ya da kronik seyreden ve maddi kayıplara yol açan bir protozoon hastalığıdır (Kaufmann 1996, Shkap ve ark 1998, Martin 1999, Xuan ve ark 2001c, Kumar ve ark 2003b, Anonim 2004, Boldbaatar ve ark 2005).

### 3.2.2. Atlardaki *Babesia* Türlerinin Sınıflandırılması

Atlardaki *Babesia* türlerinin taksonomideki yeri aşağıdaki şekildedir (Levine 1985, Toparlak ve Tüzer 1999, Dumanlı 2002).

<b>Dünya</b>	: Protista
<b>Alt Dünya</b>	: Protozoa
<b>Şube</b>	: Apicomplexa
<b>Sınıf</b>	: Sporozoa
<b>Alt Sınıf</b>	: Piroplasmia
<b>Takım</b>	: Piroplasmida
<b>Aile</b>	: Babesidae
<b>Cins</b>	: <i>Babesia</i>
<b>Tür</b>	: <i>Babesia equi</i> Laveran, 1901 ( <i>Theileria equi</i> )
<b>Tür</b>	: <i>Babesia caballi</i> Nuttall ve Strickland, 1910

### 3.2.3. Tarihçe

*Babesia*'lar ilk kez 1888 yılında yüksek ateş ve hemoglobinüri belirtileri gösteren bir sığırın perifer kanından Romanyalı bir araştırmacı olan Victor Babes tarafından keşfedilmiştir. Babes eritrositlerin içinde gördüğü bu protozoonun bir bakteri olduğunu düşünmüştür. Sonraları, 1893 yılında Smith ve Kilbourne isimli araştırmacılar hastalığın taşıyıcısının keneler olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacıların bu bulguları protozoonların artropodlar tarafından taşındığını bildiren ilk vaka olarak tarihe geçmiştir (Cox 1998).

Geçmişte hastalık; antrax humması (anthrax fever), safra humması (biliary fever), peteşi humması, at vebası, tektırnaklı sıtması ve nuttaliosis gibi isimlerle adlandırılmıştır (Edwards ve ark 2005, Nalbantoğlu 2005). Tektırnaklılarda ilk babesiosis olgusu Hutcheon'a atfen 1893'de safra humması olarak, Guglielmi'ye atfen 1899 yılında İtalya'da rastlanan babesiosis olgusu da tektırnaklı sıtması adıyla rapor edilmiştir. Nuttal'a atfen, 1910 yılında tektırnaklılarda *Piroplasma caballi* ve *Nuttalia equi* adında iki ayrı türün bulunduğu bildirilmiştir (Gören ve Yetkin 1935). Sonraları evcil ve vahşi birçok hayvanda tespit edilen etkenler *Babesia* olarak isimlendirilmişlerdir (Cox 1998).

#### 3.2.3.1. Atlardaki *Babesia* Türlerinin Dünyada Yayılışı

Geniş bir yayılım alanına sahip olan tektırnaklı babesiosisi, at varlığının fazla olduğu bölgelerde ve uluslararası ticarete önemli bir sorun olarak kabul edilmektedir (Huang ve ark 2004). Miks enfeksiyonlar dışında *B. equi*, *B. caballi*'den daha fazla görülmektedir. Asya, Afrika, Güney Avrupa, Rusya, Orta Asya, Panama ve Kuzey Amerika'da babesiosis vakaları bildirilmiştir (Shkap ve ark 1998). Hindistan'da *B. equi* enfeksiyonları endemik seyretmektedir (Kumar ve ark 2003b). İsrail'de serolojik olarak muayenesi yapılan atların 1/3'ü *B. equi* yönünden pozitif bulunmuştur (Shkap ve ark

1998). Moğolistan da 254 at üzerinde ELİSA kullanılarak yapılan bir çalışmada *B. equi* %72.8, *B. caballi* %40.1 ve her iki tür ile meydana gelen ortak enfeksiyon ise % 30.7 oranında pozitif bulunmuştur (Boldbaatar ve ark 2005). Çin'de ELİSA kullanılarak 111 at üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise *B. equi* %36, *B. caballi* %32 ve her iki türün pozitif olduğu enfeksiyon oranı %12 bulunmuştur (Xu ve ark 2003). Sovyetler Birliği, Küba ve Kuzey Amerika'da *Babesia* enfeksiyonlarına çok rastlanmaktadır (Anonim 2005). ABD'nin Florida ve Teksas eyaletlerinde 1960'lı yıllarda ve İspanya'da 1970'li yıllarda atlarda epidemiler şeklinde görülen babesiosis olgularının uygulanan mücadele programlarıyla eradike edildiği bildirilmiştir. Günümüzde tekturnaklı babesiosisinin Avustralya, Kanada, İngiltere, İrlanda, Japonya ve ABD gibi ülkeler için endemik olmadığı düşünülmektedir (Martin 1999, Anonim 2004).

### 3.2.3.2. Atlardaki *Babesia* Türlerinin Türkiye'de Yayılışı

Türkiye'de yapılan çeşitli araştırmalarda klinik ve subklinik *Babesia* enfeksiyonları tespit edilmiştir. Bu çalışmaların sonuçlarına göre *B. equi* ve *B. caballi* enfeksiyonları bazen tek başına (Balkaya 2004), bazen de birlikte görülmektedir (Özcan 1961, Aktaş ve Dumanlı 2000, İnci 1997, Akkan ve ark 2003). Babesiosis ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunluğunu perifer kandan yapılan frotilerin mikroskopik muayenesi oluşturmuştur. Serolojik çalışmalar ise daha sınırlı düzeyde kalmıştır (Akkan ve ark 2003, Balkaya 2004). Son yıllarda babesiosisin teşhisinde İFAT ve KFT gibi serolojik testlerin yanı sıra PCR metodunun da kullanıldığı bildirilmiştir (Nalbantoğlu 2005).

Türkiye atlarında *Babesia* enfeksiyonları ilk kez Balkan savaşı sırasında tespit edilmiştir (Aktaş ve Dumanlı 2000). Daha sonra 1930 yılında Bursa'nın Karacabey ilçesinden bildirilmiştir (Mimioğlu ve ark 1968). Mikroskopik bakıya dayandırılan çalışmalarda Trakya, Marmara ve kısmen Orta Anadolu'yu içine alan bölgelerde *B. equi*,

*B. caballi*'den fazla bulunmuştur (Alibaşoğlu ve Yalçınar 1965). Ankara'da yapılan bir çalışmada *B. caballi*'nin, *B.equi*'ye göre daha yüksek oranda bulunduğu bildirilmiştir (Özcan 1961). Buna karşın, Malatya'da yapılan bir başka çalışmada 130 atın 15'inde *B. equi*, 4'ünde *B. caballi*, 2'sinde ise her iki tür birlikte tespit edilmiştir (Aktaş ve Dumanlı 2000). Gemlik askeri harasında bulunan 133 attan alınan kan frotilerinin mikroskopik muayenelerinde 16 atta *B. caballi*, 8 atta *B. equi* ve 6 atta ise her iki etkenin varlığı tespit edilmiştir (İnci 1997). Kayseri'de yapılan bir çalışmada 89 atın 7'sinde *B. caballi*, 4'ünde *B.equi*, 4'ünde ise her iki tür birlikte tespit edilmiştir (İnci 2002). Türkiye'nin Doğu Anadolu sınırındaki atlarda yapılan bir araştırmada *B. equi* mikroskopik muayene ile %58.18, İFAT ile % 64.5 oranında bulunmuştur. *Babesia caballi* ise mikroskopik muayenede rastlanmamasına karşın İFAT ile % 4.5 oranında tespit edilmiştir. Çalışmada her iki tür birlikte % 0.9 oranında bulunmuştur (Akkan ve ark 2003). Türkiye genelinde yapılan bir çalışmada yalnızca bir atta mikroskopik olarak *B. equi* türü tespit edilmiştir. Bu atlardan alınan kan serumlarının serolojik muayenesinde, İFAT ile *B. equi* ve *B. caballi* antikorlarına sırasıyla % 25.7 ve % 11.1 oranlarında, KFT ile % 19.7 ve % 0.9 oranlarında rastlanmıştır. Aynı çalışmada Akdeniz bölgesinde kan serumları incelenen 85 atta *B. equi*'ye KFT ve İFAT ile sırasıyla % 11.8 ve % 23.5 oranlarında, *B.caballi*'ye ise % 1.2 ve % 15.3 oranlarında rastlanmıştır (Balkaya 2004).

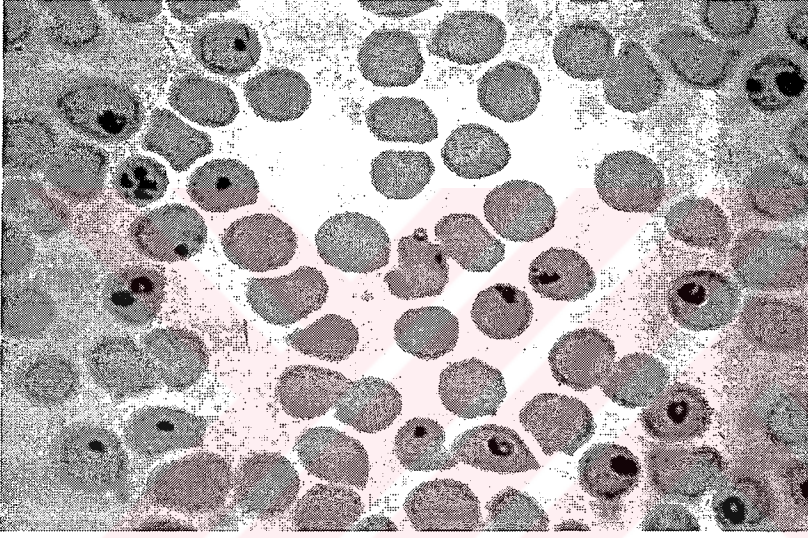
#### 3.2.4. Morfoloji

*Babesia* türleri hayatlarının belli bir döneminde apikal kompleks adı verilen bir yapıya sahip bulduklarından Apicomplexa şubesine dahil edilmişlerdir. Atlarda *Babesia equi* ve *B. caballi* isimli iki *Babesia* türü bildirilmektedir ( Levine 1985, Anonim 2005, Edwards ve ark 2005).

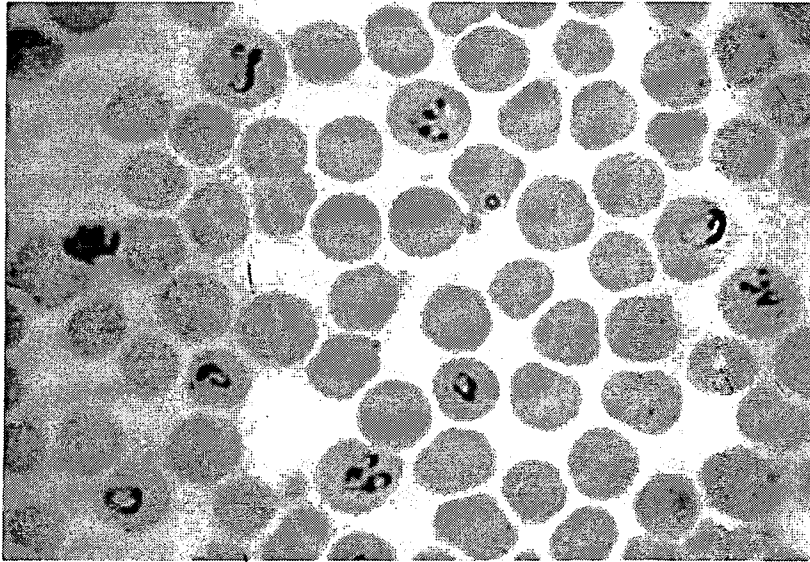


*Babesia equi*, 2 µm çapında küçük bir türdür. Eritrosit içindeki tipik dörtlü bölünme formları Malta haçına benzemekle beraber yuvarlak, oval ve armut şeklinde de görülebilir (Guimaraes ve ark 2003, Edwards ve ark 2005) (Resim 1).

*Babesia caballi* ise biraz daha büyük bir tür olup morfolojik olarak sığırlardaki *Babesia bigemina*'ya benzer (Dumanlı 2002). Eritrositler içerisinde 1.5–3 µm büyüklükte, tekli veya ikili armut, yuvarlak veya oval şekillerde görülebilir. İkili armut formunda formlar arasındaki açı dar açıdır (Kaufman 1996, Edwards ve ark 2005) (Resim 2).



Resim 1. *Babesia equi*'nin eritrosit içindeki bölünme formları



Resim 2. *Babesia caballi*'nin eritrosit içindeki bölünme formları

### 3.2.5. Vektörler

At, katır, eşek ve zebralar bu iki tür için son konak olup vektörleri İxodid kenelerdir. *Babesia equi* ve *B. caballi*'ye; *Boophilus*, *Hyalomma*, *Dermacentor* ve *Rhipicephalus* türlerinin vektörlük yaptığı bildirilmiştir (Levine 1985, Kaufmann 1996, Bashuriddin ve ark 1999, Martin 1999, Rampersad ve ark 2003, Edwards ve ark 2005) (Tablo1).

<i>Babesia equi</i>	<i>Babesia caballi</i>
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>Rhipicephalus bursa</i>	<i>Rhipicephalus bursa</i>
<i>Rhipicephalus turanicus</i>	<i>Dermacentor nitens</i>
<i>Rhipicephalus evertsi</i>	<i>Dermacentor silvarum</i>
<i>Dermacentor marginatus</i>	<i>Dermacentor marginatus</i>
<i>Dermacentor reticulatus</i>	<i>Dermacentor reticulatus</i>
<i>Dermacentor nuttalli</i>	
<i>Hyalomma excavatum</i>	<i>Hyalomma a. excavatum</i>
<i>Hyalomma a. anatolicum</i>	
<i>H. marginatum</i>	<i>Hyalomma dromedarii</i>
<i>H. dromedarii</i>	
<i>Boophilis microplus</i>	<i>Boophilis microplus</i>

Tablo 1. Atlardaki *Babesiosis* etkenlerine vektörlük yapan kene türleri

Avustralya'da *Rhipicephalus sanguineus*, *Boophilis microplus*, Brezilya'da *B. microplus*, Afrika'da *Rhipicephalus turanicus*, *Rhipicephalus evertsi*, *Dermacentor nuttalli* ve *Hyalomma* türlerinin (*H. dromedarii*, *H. marginatum*) (Kaufmann 1996, Guimaraes ve ark 2003, Edwards ve ark 2005), Akdeniz havzasında *Rhipicephalus bursa*'nın *B. equi*'ye vektörlük yaptığı bildirilmiştir (Kaufmann 1996, Bashuriddin ve ark 1999). *Babesia caballi*'ye ise *R. bursa* ve *R. sanguineus*, *Dermacentor marginatus*, *D. nitens*, *B. microplus* ve *Hyalomma* türlerinin (*Hyalomma a. excavatum*, *Hyalomma*



*dromedarii*) vektörlük yaptığı bildirilmiştir (Kaufmann 1996, Bashuriddin ve ark 1999, Martin 1999, Edwards ve ark 2005).

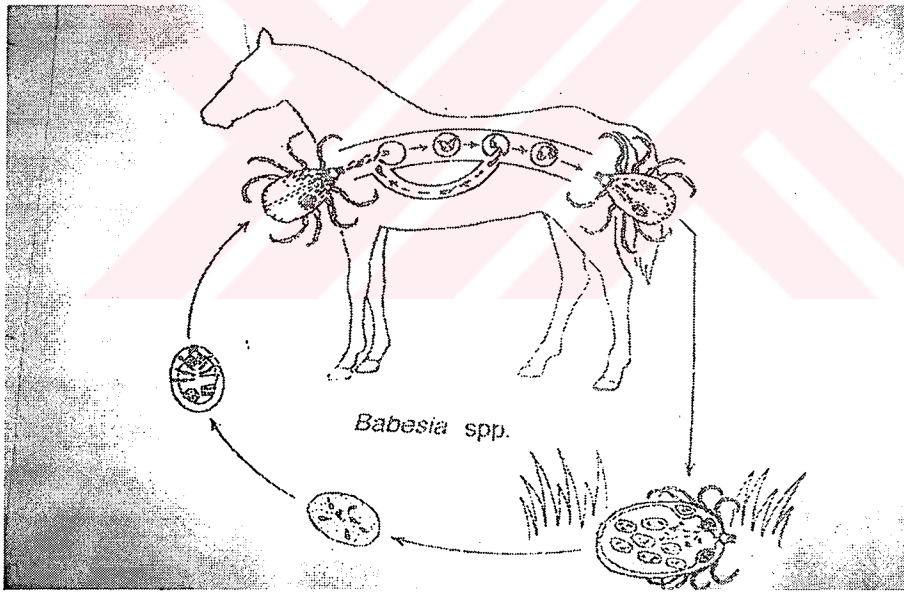
### 3.2.6. Biyoloji

Vektör keneler *Babesia* etkenlerini bir konaktan diğerine, ya kenenin bir gelişme döneminden sonraki gelişme dönemine (transtadial bulaşma), ya da bir nesilden sonraki nesile aktararak (transovarial bulaşma) naklederler. *Babesia equi*'de transtadial nakil, *Babesia caballi*'de ise transtadial ve transovarial nakil söz konusudur (Levine 1985, Kaufmann 1996, Martin 1999, Edwards ve ark 2005, Nalbantoğlu 2005). PCR metodu ile *B. microplus*'un yumurta ve larvasında *B. equi* ve *B. caballi*'nin DNA'ları tespit edilmişse de (Battsetseg ve ark 2002), *B. equi*'nin kenelerle transovarial nakledildiği bugüne dek gösterilememiştir (Anonim 2004).

*Babesia equi*'de, sporozoitler kene tarafından konağa aktarıldığında önce lenf yumrularında lenf hücrelerine girerek şizogoni ile çoğalırlar. Önce makroşizontlar, daha sonra da bunlardan mikroşizontlar oluşur. Mikroşizontlar daha sonra eritrositlere girerek halka, ameboid ve dörtlü haç formunda gelişmelerini ve çoğalmalarını sürdürürler. Bu parazitin tektirnaklılardaki gelişimi *Theileria* türlerinin gelişimine benzemesi nedeniyle, *B. equi*'ye atların theileriosis etkeni de denilmektedir. Vektör kene kan emdiğinde fertilizasyon kenenin bağırsaklarında olur. Etkenler önce nimf safhasındaki kenenin tükürük bezinde sporogoni ile çoğalır. Meydana gelen sporozoitler kene erişkin olduğunda da çoğalmaya devam ederek ikinci nesil sporozitleri meydana getirirler. Meydana gelen her iki tip sporozoitin de enfektif olduğu bildirilmiştir (Toparlak ve Tüzer 1999, Dumanlı 2002).

*Babesia caballi*'de transtadial nakil *B. equi*'de olduğu gibidir. Ancak ondan farklı olarak keneler tarafından konağa aktarılan sporozoitler lenf yumrularına uğramadan

doğruca eritrositlere girerek gelişmelerini sürdürürler (Toparlak ve Tüzer 1999, Dumanlı 2002). *Babesia caballi*'de görülen diğer bir nakil türü transovarial nakildir. Burada kene, hasta hayvandan kan emme esnasında eritrositlerle birlikte etkenleri de alır. Kenenin bağırsağında eritrositler parçalanır. Oluşan makro ve mikrogametler birbirlerini döllerler ve zigot oluşur. Oluşan zigot hareketlidir. Kenenin bağırsak epitelyum hücrelerinde gelişip büyüdükten sonra çoğa bölünerek sporokinetleri oluşturur. Vermikül de denen sporokinetler zigotu parçalayarak barsak boşluğuna dökülürler. Barsak epitelyum hücrelerine, malpigi tubuluslarına, epidermis hücrelerine, kaslara ve hemolenfe giderek gelişmelerini sürdürürler. Şayet kene dişi ise ovaryumlara da giderek, oluşacak yeni nesillerin enfekte olmasına yol açarlar. Enfeksiyonun bu şekilde meydana gelmesine transovarial nakil denir (Toparlak ve Tüzer 1999, Dumanlı 2002).



Resim 3. *Babesia* türlerinin kene ve konakçıda gelişim şeması

### 3.2.7. Bağışıklık

Babesiosis'in tavlarda ağır seyrettiği bildirilmiştir (Knowles 1996). Babesiosis enfeksiyonlarını geçiren hayvanlarda dolaşım kanında az da olsa belli bir miktarda bulunan

etkenlere karşı antikor oluşur. Bu şekilde meydana gelen kazanılmış bağışıklık preimmunosyon ya da konkomitant bağışıklık olarak isimlendirilir. *Babesia caballi* enfeksiyonlarında iki yıl süreyle devam eden bağışıklığın koruyucu etkisinden dolayı hayvanlar hastalanmazlar (Bashuriddin ve ark 1999, Toparlak ve Tüzer 1999). *B. equi* enfeksiyonlarında ise iyileşmeden sonra sığırlarda olduğu gibi uzun süre enfeksiyonlara karşı dirençli hale gelirler (Shkap ve ark 1998, Martin 1999). Akut babesiosis geçiren atlar iyileştikten sonra enfeksiyon sublinik veya kronik safhaya geçer. Böyle olan atlar diğer hayvanlar için portör görevi görürler (Bashuriddin ve ark 1999). Dolaşım kanındaki etkenlerin yok olmasıyla bağışıklık ortadan kalkar ve hayvanlar hastalık etkenine açık hale gelirler. Babesiosis'te bağışıklık türe spesifiktir. Türler arasında çapraz bağışıklık bildirilmemiştir. Aynı türün farklı suşları arasında çapraz bağışıklık meydana gelmekte, klinik enfeksiyon oluşsa bile enfeksiyonun seyri hafif olmaktadır. (Toparlak ve Tüzer 1999, Dumanlı 2002).

### 3.2.8. Epidemiyoloji

Hastalığın epidemiyolojisinde iklim, vektör kenelerin türü, bu kenelerin mevsimsel aktiviteleri, konağın daha önceden hastalıkla karşılaşmış karşılaşmadığı, konağın yaşı ve ırkı gibi faktörler rol oynamaktadır (Boldbaatar ve ark 2005, Nalbantoğlu 2005). Babesiosis vektör kenelerin mevsimsel aktivitelerinden dolayı özellikle ilkbahar ve yaz aylarında daha fazla görülmektedir. *Babesia equi* ile enfekte atlar hayatları boyunca taşıyıcı olarak kalabilirler (Bashuriddin ve ark 1999, Martin 1999, Tamaki ve ark 2004). Hastalığın kontamine iğne ve şırıngalarla yayılabileceği, özellikle *B. equi*'nin taylara intrauterin yolla bulaşabileceği bildirilmiştir (Anonim 2004).

### 3.2.9. Patogenesis

Atlarda, babesiosis akut, subakut ve kronik bir seyir gösterebilir. Yaş direnci, enfeksiyon sonrası şekillenen bağışıklık, stres faktörleri, aynı türün farklı suşları arasında oluşan çapraz bağışıklık durumu, parazitin virulansı ve miktarı, enfeksiyonun miks olup olmaması gibi faktörler hastalığın patogenesisinde etkili olmaktadır (Dumanlı 2002). *Babesia equi*'nin *B. caballi*'den daha patojen olduğu bildirilmiştir (Kaufmann 1996, Shkap ve ark 1998, Bashuriddin ve ark 1999). Kuzey Amerika'da, *B. equi*'nin mortalite oranı endemik olan ve olmayan bölgelerde değişmekte ve ortalama %20'nin üzerinde (%10–50) seyir göstermektedir (Shkap ve ark 1998, Anonim 2004). Hastalığı geçiren atlar hastalık için portör görevi görmektedirler (Bashuriddin ve ark 1999, Martin 1999, Tamaki ve ark 2004, Anonim 2004 ).

Babesiosin patogenezisinde iki faktör önemlidir. Bunlar damarlarda olan değişiklikler ve intravasküler hemolizdir. Akut dönemde plazma bileşiklerinde değişiklik olur. Bunun sonucunda kılcak damarlarda tıkanmalar, pıhtılaşma bozuklukları, ödem, kanamalar, dokuların oksijensiz kalması, nekrozlar, şok ve ölüm görülebilir (Kaufmann 1996, Toparlak ve Tüzer 1999, Dumanlı 2002). Etkenler tarafından istila edilmiş eritrositlerde metabolik strese bağlı olarak hipofosfotemi ve eritrosit duvarında zayıflama sonucu parçalanma meydana gelmektedir (Edwards ve ark 2005). Parazitler eritrositler içerisinde çoğalırken onları parçalar bunun yanında eritrositler nötrofil ve makrofajlar tarafından fagosite edilir. Eritrositlerin parçalanması sonucu hayvanlarda anemi, hemoglobüri, sarılık, kardiyak şok ve ölüm görülebilir (Shkap ve ark 1998, Anonim 2004).

### 3.2.10. Semptomlar

Tektırnaklılarda babesiosis özellikle yüksek ateş, anemi, sarılık ve hemoglobın ri ile seyreder. Klinik belirtiler pek spesifik olmadığından diğer hastalıklarla karıştırılabilmektedir. Hastalık perakut, akut, subakut ve kronik seyirli olabilir. Ancak akut vakalar daha fazla görülmektedir. Atlarda babesiosisin klinik belirtileri genellikle değişkendir ve 5 ila 21 günlük bir inkübasyon periyodundan sonra ortaya çıkar (Edwards ve ark 2005). Perakut olaylar nadir olup 1–2 gün içinde hastalar l halde bulunabilirler (Anonim 2004, Edwards ve ark 2005). Akut vakalarda hayvanlarda 40°C'yi açan bir ateş, iştah kaybı, solunum ve nabız sayısında artış, mukoz membranlarda konjesyon ile kk ve kuru bir dışkı görülebilir. Subakut vakalarda da belirtiler benzer şekildedir. Buna ek olarak ağrılık kaybı ve aralıklı bir ateş gözlenebilir. Müköz membranlar solgun pembe yada açık sarı renktedir. Müköz membranlarda peteşi ve ekimozlar, bağırsak hareketlerinde azalma ve hafif sancı görülebilir (Kaufmann 1996, Bashuriddin ve ark 1999, Tamaki ve ark 2004, Anonim 2004). Bazen bacakların alt kısımlarında ödematöz bir şişkinliğe de rastlanılabılır (Hailat ve ark 1997). Subakut olgular aralıklı ateş, iştahsızlık, kilo kaybı, taşikardi, solunum sayısının artması, değişik derecelerde sarılık ve bilirubin ri ile karakterizedir (Edwards ve ark 2005). Kronik olgular ise çoğunlukla spesifik değildir. İştahsızlık, halsizlik, zayıflama ve rektal muayenede dalağın büyümesi gibi atipik semptomlar görülebilir. İnteruterin enfeksiyona yakalanmış taylor zayıf doğarlar ve hızla anemi ve sarılık semptomlarını gösterirler (Anonim 2004). Babesiosiste sekonder olarak şekillenen komplikasyonlar sonucu akut renal yetmezlik, kolik, enteritis, laminitis, pneumoni, infertilite ve abort gibi bozukluklar ortaya çıkabilir (Edwards ve ark 2005).

Yapılan bir çalışmada; hasta, portör ve sağlam atların hemotolojik değerleri araştırılmış; hasta ve taşıyıcılarda lökosit sayısının arttığı, hemoglobin miktarında, eritrosit sayısında ve hematokrit, serum total protein miktarında düşme, buna karşın bilirubin

miktarında ve karaciğer enzimlerinde (ALP, AST, GGT, CPK) genel bir yükselme görülmüştür. İmidocarb ile tedaviden sonra ise bu değerlerin normale döndüğü bildirilmiştir (Hailat ve ark 1997).

### 3.2.11. Nekropsi Bulguları

Nekropside genel olarak göğüs ve karın boşluğunda sarımsı bir eksudat, dalak karaciğer ve kalpte büyüme, akciğer ödemi, mukoza ve derialtı dokusunda sarılık ve kanama ile jelatinimsi infiltrasyonlar görülebilir. Akut olaylarda genellikle aşırı bir zayıflama, anemi ve sarılık tablosu görülür. Karaciğerin büyümüş, koyu portakal rengi ya da kahverenginde, dalağın büyümüş, böbreklerin ise solgun ve gevşek kıvamda olduğu görülür. Böbreklerde peteşiyel kanamalar, kalpte subepikardiyal ve subendokardiyal kanamalar ile akciğerlerde pneumonie tablosu ve akciğer ödemi görülebilir (Hailat ve ark 1997, Anonim 2004). Yapılan bir çalışmada, babesiosisli hayvanların karaciğerinde ağır sentrilobular dejenerasyon ve koagulatif tipte nekrozlar görülmüştür. Birbirine komşu olan nekrozlaşmış ve tamamı şişmiş vaziyette olan hepatositlerin stoplazmaları granüler yapıda olup, özellikle orta ve giriş kısımlarında yağ damlacıkları ve nadiren safra pigmentleri gözlenmiştir. Dejenere hepatositlerin etrafında polimorf nükleer hücre infiltrasyonu göze çarpmıştır. Eosinofiller koyu bir renk almış (hyalin damlacıkları), şekli ve boyutları değişmiştir. Ayrıca safra kanallarında hiperplazi ve tıkanma, akciğerlerde akut pulmoner konjesyon, alveoler boşluklarda ödematöz tıkanmalar ve pulmoner damarlarda trombozların görüldüğü bildirilmiştir (Hailat ve ark 1997).

### 3.2.12. Teşhis

Tektırnaklıların babesiosisi klinik olarak surra, atların enfeksiyöz anemisi, durin, Afrika at vebası, leptospirosis, trypanosomiasis, purpura hemorajika, monositik ehrlichiosis, karaciğer hastalıkları, çeşitli bitkilerle ve kimyasallarla zehirlenmelerle

karıştırılabilir (Kaufmann 1996, Anonim 2004, Edwards ve ark 2005). Kan tablosunu değiştiren diğer olaylar ile karıştırılabileceğinden babesiosisin tanısında hematolojik bulgular güvenilir bulunmamıştır (Bashuriddin ve ark 1999).

Babesiosiste teşhis mikroskopik, serolojik ve moleküler biyolojik (PCR) yöntemlerle yapılmaktadır. (Shkap ve ark 1998, Bashuriddin ve ark 1999, Nicolaiewsky ve ark 2001, Hirata ve ark 2003, Kumar ve ark 2003b, Anonim 2004, Tamaki ve ark 2004, Boldbaatar ve ark 2005). Bunun yanında invitro kültürler ve portör hayvanlardan alınan kanın, dalağı çıkarılarak hassas hale getirilmiş hayvanlara inokülasyonu gibi yöntemler de kullanılmaktadır (Shkap ve ark 1998). *Babesia caballi* invitro şartlarda üretilmiş, fakat bu işlemin uzun sürdüğü bildirilmiştir (Avarzed ve ark 1997a). Portör atlarda sürme preparatların mikroskopik muayenesi ile hastalığın teşhisi oldukça zor olduğu için serolojik testlerin yapılması önerilmektedir (Güçlü 2003, Hirata ve ark 2003, Kaya 2003, Kumar ve ark 2003b, Anonim 2004, Tamaki ve ark 2004).

### **3.2.12.1. Mikroskopik muayene**

Mikroskopik muayene perifer kandan yada organlardan hazırlanan frotilerin Giemsa boyası ile boyanmasıyla yapılmaktadır. Hastalığın akut döneminde mikroskopik olarak etkenlerin eritrositer formlarını görmek suretiyle yapılan bu teşhis metodu güvenilir ve çabuk sonuç veren bir yöntemdir (Güçlü 2003, Kaya 2003, Kumar ve ark 2003b, Anonim 2004, Anonim 2005). Kene tutunmasından 12–24 gün sonra lenf düğümlerine punksiyon yapılarak elde edilen lenfositlerde *B. equi*'nin görüldüğü bildirilmiştir (Moltmann ve ark 1983). Fakat kanda paraziteminin düşük olduğu durumlarda ve hayvanların portör olduğu durumlarda mikroskopik muayene ile sağlıklı sonuçlar alınamamaktadır (Güçlü 2003, Kaya 2003, Kumar ve ark 2003b, Anonim 2004, Tamaki ve ark 2004, Anonim 2005).



### 3.2.12.2. Serolojik Testler ve Duyarlılıklarının Karşılaştırılması

Kandan hazırlanan preparatların direkt mikroskopik muayenesi ile portör hayvanlarda etkenlerin bulunması zor olduğundan dolayı, daha çok serolojik yöntemlerle bulunan sonuçlar doğrulayıcı olarak kullanılmaktadır (Bruning 1996).

Serolojik testlerden ELİSA (Enzim Linked İmmunosorbent Assay), KFT (Komplement Fiksasyon Test), İFAT (İndirek Fluoresan Antikor Testi), LAT (Lateks Aglutinasyon Test), WB (Western Blot Analiz) (Martin 1999, Nicolaiewsky ve ark 2001, Xuan ve ark 2001b, Anonim 2004, Anonim 2005, Boldbaatar ve ark 2005) ve ICT (İmmunochromomatographic test) yöntemleri kullanılmaktadır (Huang ve ark 2004).

Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi (OIE) standartlarına göre tektirnaklı babesiosisinin teşhisinde serolojik olarak KFT ve İFAT birlikte kullanılmaktadır (Xuan ve ark 2001a, Kumar ve ark 2003b, Anonim 2005). KFT uluslararası nakillerde istenen serolojik yöntemlerdendir. Latent enfeksiyonlarda ve hastalığın başlangıç döneminde spesifitesi düşük olup hatalı sonuçlar verebilmektedir (Bashuriddin ve ark 1999, Kumar ve ark 2003b). Ayrıca bu testlerde antikor seviyelerinin tam olarak belirlenememesi ve çapraz reaksiyonların şekillenmesi gibi problemler görülebilmektedir (Xuan ve ark 2001c). İFAT uluslararası ticarete kabul edilen serolojik yöntemlerden biridir. Daha çok, şüpheli durumlarda, sonucun negatif olması halinde *B. equi* ve *B. caballi* enfeksiyonlarının ayrıcı teşhisinde kullanılmaktadır. ELİSA ve İFAT'ın KFT'ne göre daha yüksek duyarlılıkta olduğu bildirilmiştir (Bashuriddin ve ark 1999, Kumar ve ark 2003b). Yapılan bir çalışmada, *B. equi*'nin antikor seviyeleri indirek ELİSA ve direk ELİSA yöntemleriyle araştırılmış, direkt ELİSA sonuçlarının daha güvenilir, ucuz ve hızlı olduğu, KFT'ne kıyasla daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (Kumar ve ark 2003b). ELİSA özellikle deneysel enfeksiyonlarda her iki *Babesia* türünün antikorlarının tespiti amacıyla kullanılmaktadır.



ELİSA'da *B. equi* ve *B. caballi* arasında çapraz reaksiyonlar daha belirgin olarak görülür. Bu yüzden ELİSA testinden önce *Babesia* türleri arasında tür ayırımını ortaya koyan İFAT gibi bir testin uygulanması önerilmektedir. Yapılan çalışmalarda cELİSA ve İFAT sonuçları arasında yüksek oranda uyum gözlenmiştir (Shkap ve ark 1998, Bashuriddin ve ark 1999). Brüning ve ark (1997)'nin yaptığı bir çalışmada 60 at kan serumu KFT, cELİSA ve İFAT ile incelenmiş; *B. caballi* yönünden 44'ü cELİSA ile 19'u KFT ile, *B. equi* yönünden ise 32'si cELİSA ile 36'sı KFT ile pozitif sonuç vermiştir. *B. caballi* yönünden cELİSA ile pozitif ama KFT ile negatif sonuç veren 25 serum örneği İFAT ile test edilmiş ve 25 serumun 19'u pozitif bulunmuştur. *B. equi* yönünden cELİSA ile pozitif, KFT ile ise negatif sonuç veren 8 örnek İFAT ile bakılmış ve bu 8 örneğin 4'ünün pozitif bulunduğu bildirilmiştir cELİSA ve Western Blot yönteminde rekombinant *Babesia*'ların merozoit antijenleri kullanılmaktadır. Bu iki test yüksek duyarlılıkta, spesifik ve ekonomiktir (Huang ve ark 2004). Bir çalışmada *B. equi* yönünden 361 attan alınan serumlar cELİSA ve İFAT ile incelenmiş, cELİSA ile negatif bulunan 8 numune İFAT ile pozitif bulunmuştur. Bu iki test arasında %95.7 oranında uyum olduğu görülmüştür (Shkap ve ark 1998).

#### **3.2.12.2.A. Komplement Fikzasyon Testi (KFT)**

Bu test indikatör olarak kullanılan eritrositleri eritmek için komplemanın kullanıldığı iki basamaklı bir yöntemdir. Yani kompleman varlığında eritrositlerin sitolizisi bu testin temelini oluşturur (Kuman 1997).

#### **3.2.12.2.B. İndirek Fluoresan Antikor Test (İFAT)**

Değişik sulandırılmaları yapılmış şüpheli serumların, önceden lamlar üzerine fikse edilmiş parazitin kendisi veya kesitlerinin üzerine konularak, inkübasyon ve yıkama

işleminden sonra test edilen serumlarda antijene karşı oluşmuş antikorların, flouresans ile işaretli konjuge yardımıyla gösterilmesine dayalı bir yöntemdir (Özcel ve ark1997).

#### **3.2.12.2.C. Lateks Aglutinasyon Testi (LAT)**

Uygun antikor varlığında antijen ve antikorun kümelenmesi esasına dayanan bir yöntemdir. Lateks Aglutinasyon Testinde (LAT), *B. equi*'ye karşı gelişen antikorların tespiti amacıyla rekombinant equi merozoit Antijeni 1 (EMA 1) kullanılmaktadır. Bu test *B. equi* ile *B. caballi* enfeksiyonlarının ayırıcı teşhisinde ya da *B. equi* enfeksiyonlu atlar ile normal atların ayırımında kullanılmaktadır. (Xuan ve ark 2001b).

#### **3.2.12.2.D. Enzim Linked İmmunosorbent Assay (ELİSA)**

Enzyme Immun Assay (EIA) olarak da adlandırılan bu yöntem esas olarak, oluşturulan antijen-antikor kompleksine enzim ile işaretli antiglobülin ilave edilmesi ve sonra substratın eklenmesi ile eğer antijen yada antikor varsa renk oluşumunun gözlenmesi esasına dayanmaktadır. Substrat enzimin etki ettiği ve enzime spesifik olan maddedir. ELİSA'nın çok duyarlı ve güvenilir olması, kolay uygulanabilir olması, işaretli immün ayraçların uzun süre saklanabilmesi, radioisotopların kullanımı sonrası atıkların yok edilmesi önleminin gerekmemesi ve enzim işaretleri için kromojenik substrat kullanılarak görülebilir ve okunabilir sonuçlar vermesi gibi özellikler sistemin avantajlı yanlarıdır. Bunun yanında özel cihazlara gereksinim bulunması ve pahalı olması ise sistemin dezavantajları olarak sayılabilir (Ak 1997, Anonim 2005). Parazitolojik tanıda antijen veya antikor arama prensibine dayanarak kullanılan ELİSA yöntemleri direkt ELİSA, indirekt ELİSA, dot- ELİSA, kompetitif ELİSA yöntemleridir (Brüning ve ark 1997, Huang ve ark 2004, Anonim 2005). Direk ELİSA'da; katı ortamda, bilinen antikora aynı anda antijen aranacak şüpheli materyalin eklenmesiyle yapılır. İndirek ELİSA ise bilinen antikora şüpheli materyal yanında hayvan kökenli özgül antikorların eklenmesi ile yapılmaktadır.

Dot-ELİSA yönteminde antijen, ELİSA plakları yerine nitroselüloz membrana emdirilerek şüphelenilen örnekte antikor ya da antijen aranmaktadır (Ak 1997).

Kompetitif ELİSA (cELİSA) yönteminin prensibi de antijen antikor reaksiyonuna dayanır. Burada işaretli antijenle işaretsiz antijen antikorla reaksiyona girmek için yarışır. İşaretsiz antijen tayin etmek istediğimiz maddedir. İşaretli antijenin hazırlanmasında işaretleyici olarak enzim kullanılır. cELİSA ile, işaretli antikorlar (sekonder antikor) kullanılarak da şüpheli serumda antikor aramak mümkündür. Reaksiyonun tamamlanmasından sonra ayırma işlemi yapılır ve ortama substrat ilave edilerek fotometrik yolla enzim aktivitesi ölçülür. Belirgin renk değişimi, primer antikorların engellendiğini veya hiç olmadığını, dolayısıyla şüpheli serumda etkene ait antikorun bulunmadığını gösterir. Primer antikorların antijenlere bağlanmasının engellenmesinden kaynaklanan zayıf renk değişimi ise, şüpheli serumda etkene ait antikor varlığını gösterir (Ak 1997, Anonim 2005, VMRD 2005).

### **3.2.12.3. Moleküler Biyolojik Yöntemler**

#### **Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)**

PCR, belirli bir nükleik asit dizisinin invitro şartlarda enzimatik olarak çoğaltılması esasına dayanır. Bu yöntemde, belirlenen nükleik asit kısmının her bir zincirinin 3' ucuna tutunacak ve 5' yönünde uzayacak iki kısa nükleotid dizisi (primer), uzamayı sağlayacak olan DNA polimeraz enzimi, yeni zincirlerin yapısında yer alacak nükleotidler ve reaksiyon için tampon solüsyonlarından faydalanılmaktadır. Birinci PCR ürününün ikinci PCR için örnek olarak kullanıldığı yönteme ise Nested PCR denir. Bu yöntemde ikinci PCR ürünü fazla miktarda elde edilmektedir (Alkan ve ark 1997). Yapılan çalışmalarda PCR'ın daha duyarlı, hızlı ve direkt bir teşhis metodu olduğu, serolojik, mikroskobik ve

kültür teşhis metodlarına ek olarak kullanılabilir yararlı bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Xuan ve ark 1998, Bashuriddin ve ark 1999).

### 3.2.13. Tedavi

Tektırnaklı babesiosisi endemik bölgelerde ilaçlarla tedavi edilebilmektedir. Fakat *B. equi* enfeksiyonları tedaviye, *B. caballi*'ye göre daha az cevap vermektedir (Anonim 2004, Edwards ve ark 2005).

Tedavide *B. caballi* için Diminazen Aceturate, Quinironium sulfat, Amicarbalid, İmidocarb, İmidocarb dipropionate, Amicarbalide diisothionate, Trypanblue ve Phenamidine'nin etkili olduğu bildirilmiştir (Kumar ve ark 2002a, Nalbantoğlu 2005). Quinironium sulfat'ın atlarda 100 kg CA için 0.75-1.2 mg dozda, Diminazen Aseturat'ın ise 5 mg/kg dozda kullanılması tavsiye edilmektedir (Kaya 2005). Tedavide İmidocarb'ın 2,2 mg/kg dozda etkili olduğu bildirilmiştir. Bu preparatlardan İmidocarb, Diminazen aceturate, İmidocarb dipropionate, Parvaquone ve Buparvaquone'in *Babesia equi*'ye etkili olduğu bildirilmiştir (Nalbantoğlu 2005). *Babesia equi* ile enfekte eşekler üzerinde yapılan bir çalışmada Arteether (Artemisininin sentetik derivatı) ile Buparvaquone kombinasyonunun, İmidocarb'a göre daha etkili ve güvenli olduğu bildirilmiştir (Kumar ve ark 2003a).

### 3.2.14. Korunma

*Babesia* enfeksiyonlarının şekillenmesinde vektör keneler, hasta hayvanlar ve belirti göstermeyip hastalığı nakleden (portör) atlar büyük rol oynarlar. Korunmada kene kontrolü çok önemlidir. Doğal enfeksiyonu takiben immünitinin gelişmesi için taylor erken yaşta, kenelerle karşılaşacak şekilde bir uygulama yapılmalıdır (Nalbantoğlu 2005). Brezilya'da yapılan bir çalışmada kene mücadelesinin yapılmadığı kontrolsüz çiftliklerde

seropozitif hayvan yüzdesinin yüksek olduğu, uygun kene mücadelesinden sonra ise bu yüzdelerin büyük oranlarda düştüğü bildirilmiştir (Kerber ve ark 1999). Kontamine malzemelerle bulaşmayı önlemek için cerrahi ve medikal uygulamalarda gerekli tedbirlerin alınması gereklidir (Edwards 2005). Hastalığın eradikasyon ve kontrolünde enfekte atların uluslararası hareketlerine dikkat edilmesi gerekmektedir. Türkiye, ABD, Kanada, Meksika, Brezilya, Avustralya ve Japonya gibi ülkelerde, sınır geçişlerinde atlar teste tabi tutulmakta ve 1:5 pozitif serum titresi geçişlerde sınır kabul edilmektedir (Nalbantoğlu 2005). Kontrolde kemoterapotik bileşiklerin kullanımının tartışmalı olduğu ve hastalıkta gelişen immün yanıtı ait güncel bilgilerin enfeksiyonların kontrolü için önemli olduğu bildirilmektedir (Knowles 1996).

Günümüzde pratik olarak uygulanan ticari bir aşı mevcut değildir. Yapılan çalışmalarda, öldürülmüş *B. equi* merozoitlerinin immunojenik yeteneğinin olduğu bildirilmiştir (Kumar ve ark 2002b).

## **4. MATERYAL VE METOD**

### **4.1. Saha Çalışmaları**

Bu çalışma 2004 yılı Haziran ve Ekim ayları arasında Adana ilinin 8 ilçesinde (Merkez-Yüreğir, Saimbeyli, Aladağ, Feke, Kozan, Pozantı, Karaisalı ve Ceyhan), at varlığı fazla olan köylerden rasgele seçilen 220 at üzerinde gerçekleştirilmiştir. Seçilen atların 100 tanesi dişi 120 tanesi ise erkekti. Yaşları 4,5 aylık ile 25 yaş arasında değişmekteydi. Bunların 6 tanesi 4.5 ay ile 1 yaş arası, 34 tanesi 2-5 yaş arası, 116 tanesi 6-10 yaş arası, 58 tanesi 11-20 yaş arası, 6 tanesi ise 21-25 yaş aralıklarındaydı. Sahiplerine tespit ettirilen atlar önce klinik babesiosis yönünden muayene edildi. Üzerlerinde bulunan keneler toplanarak %75'lik alkol ve 1 damla gliserin karışımı içeren kaplara aktarıldı. Daha sonra atların kulak uçlarından alınan bir damla kanla frotiler hazırlanarak metil alkol ile tespit edildi. Atların vena jugularis'lerinden ise vakumlu tüplere serumu çıkarılmak üzere kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri ve frotiler laboratuara sevk edildi.

### **4.2.Laboratuvar Çalışmaları**

#### **4.2.1. Toplanan Kenelerin Tür Teşhisi**

Sahadan toplanan keneler stereo mikroskop altında incelenerek, ilgili literatüre dayanılarak teşhisleri yapılmıştır (Karaer ve ark 1997).

#### **4.2.2. Kan frotilerinin Boyanması ve Muayenesi**

Sahada hazırlanıp tespiti yapılmış frotiler laboratuarda %5'lik Giemsa boyası (Merck Giemsa Seri no: OB325978) ile boyanmıştır. Bir cc distile suya 1 damla Giemsa solüsyonu damlatılmak sureti ile hazırlanan boya solüsyondan her frotiler için 5 cc lam

üzerine dökülerek 45 dakika süreyle boyanmaları beklenmiştir. Boyanan frotiler yıkanıp kurutulmuş ve immersiyon yağı damlatılarak, mikroskopta 100'lük objektifte (Olympus CH2) *B. equi* ve *B. caballi* yönünden incelenmiştir.

#### **4.2.3. Serumların Elde Edilmesi**

Sahada vakumlu tüplere alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları elde edilmiş ve bu serumlar ependorf tüplere alınıp yedeklenerek test gününe kadar -80 °C'de saklanmıştır.

#### **4.2.4. ELİSA Testinde Kullanılan Alet ve Ekipmanlar**

##### **Otomatik ELİSA cihazı (TECAN Minilyser)**

##### **Pipetler ve pipet uçları**

##### **Sulandırmalar için test tüpleri**

##### **Distile su**

##### **Kullanılan antijenler (kitler)**

Tektırnaklı serumunda *B. equi* yada *B. caballi* antikorlarını tespit etmekte kullanılan aşağıdaki kitler temin edilmiş ve test gününe kadar kendi ambalajında +4 °C'de saklanmıştır.

*Babesia equi* Antibody Test Kit, cELISA (Katalog No:274-2ve 274-5),

*Babesia caballi* Antibody Test Kit, cELISA (Katalog No:273-2 ve 273-5) (WMRD 2005).

##### **Kit içerisinde bulunan maddeler**

*B. equi* ve *B. caballi* antijeni kaplı mikroplaklar

Pozitif kontrol

Negatif kontrol

Primer antikor

Peroksidaz işaretli sekonder antikor

Antikor sulandırma tamponu

Serum sulandırma tamponu

Konsantre yıkama solüsyonu

Substrat solüsyonu

Stop solüsyonu

#### **4.2.5. ELİSA testinin yapılışı**

##### **Test öncesi hazırlık aşamaları**

Teste başlamadan önce şüpheli kan serumları, kit reaktifleri ve mikropalaklar oda ısısına getirildi. Pozitif ve negatif kontroller ile serumlar, serum sulandırma tamponu ile 1:2 oranında sulandırıldı.

Mikropalaklar üzerindeki folyo çıkarılarak numaralandırma yapıldı. Kullanılmayan stripler kaplanarak saklandı.

Bir birim 100x primer antikor, 99 birim antikor sulandırma tamponu ile sulandırılarak 1x primer antikor hazırlandı. 96 kuyucuk için 60 µl 100x primer antikor, 5940 µl antikor sulandırma tamponu ile sulandırılarak, 6 ml 1x primer antikor hazırlandı.

Bir birim 100x sekonder antikor peroksidaz konjugatını 99 birim antikor sulandırma tamponu ile sulandırarak 1x sekonder antikor peroksidaz konjugatı hazırlanmaktadır. 96 kuyucuk için 60 µl 100x sekonder antikor peroksidaz konjugatı 5940 µl antikor sulandırma tamponu ile sulandırılarak 6 ml 1x sekonder antikor peroksidaz konjugatı hazırlandı.



Bir birim 10x konsantre yıkama solüsyonu 49 birim distile su ile sulandırılarak 1x yıkama solüsyonu hazırlandı.

### **Cihazın çalıştırılması**

Otomatik ELİSA cihazının bağlı olduğu bilgisayara kan serumlarının isimleri girildi. Daha önce yüklenmiş olan *B. equi* ve *B. caballi* ile ilgili test prosedürleri ayrı ayrı çalışılmak üzere seçildi. Buna göre bütün numune ve reaktifler ilgili yerlere yerleştirildi. Bilgisayardaki uyarılara göre yıkama ve sistem atıkları için bidonun boş olup olmadığı kontrol edildi. Yıkama solüsyonunun hangi bidondan kullanılacağı ve probun kendini kaç kere yıkayacağı görüldükten sonra ekranda testin pipetleme süresi, 37°C'de inkübasyon süresi, yıkama süresi ve oda sıcaklığında inkübasyon süreleri bilgisayarda bir zaman skalası üzerinde görüntülendikten sonra cihaz çalıştırıldı.

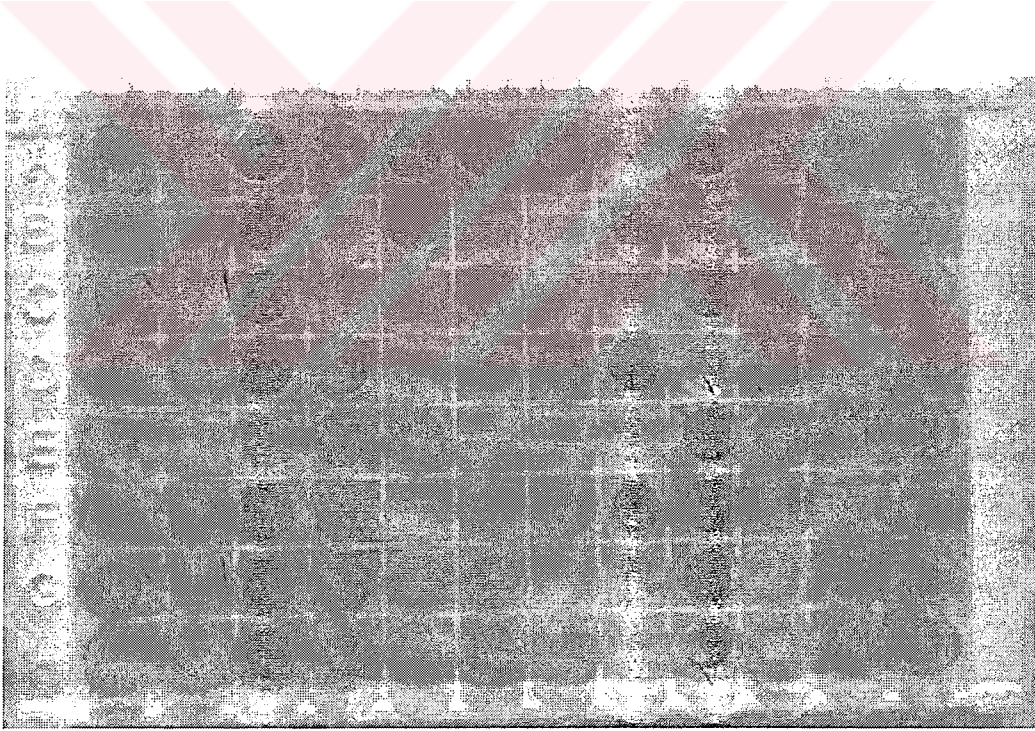
Cihaz otomatik olarak 50 µl'ye ayarlı mikropipet ile antijen kaplı mikropalakaya sulandırılmış kontrol ve serum örneklerini pipetledi. Mikroplaka oda ısısında 30 dakika inkübe edildikten sonra otomatik olarak 3 kez yıkandı. Cihaz her kuyucuğa 50 µl 1x primer antikor ekledi ve tekrar 30 dakika inkübasyon yaparak mikropalaklar 3 kez yıkandı. Cihaz her kuyucuğa 50 µl 1x peroksidadz işaretli sekonder antikor konjugatı ekledi. 30 dakika tekrar inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklar 3 kez yıkandı. Cihaz her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu ekledi. 15 dakika inkübasyon için beklendi.

Cihazın otomatik olarak gerçekleştirdiği bu işlemlerden sonra manuel olarak her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu ilave edildi.

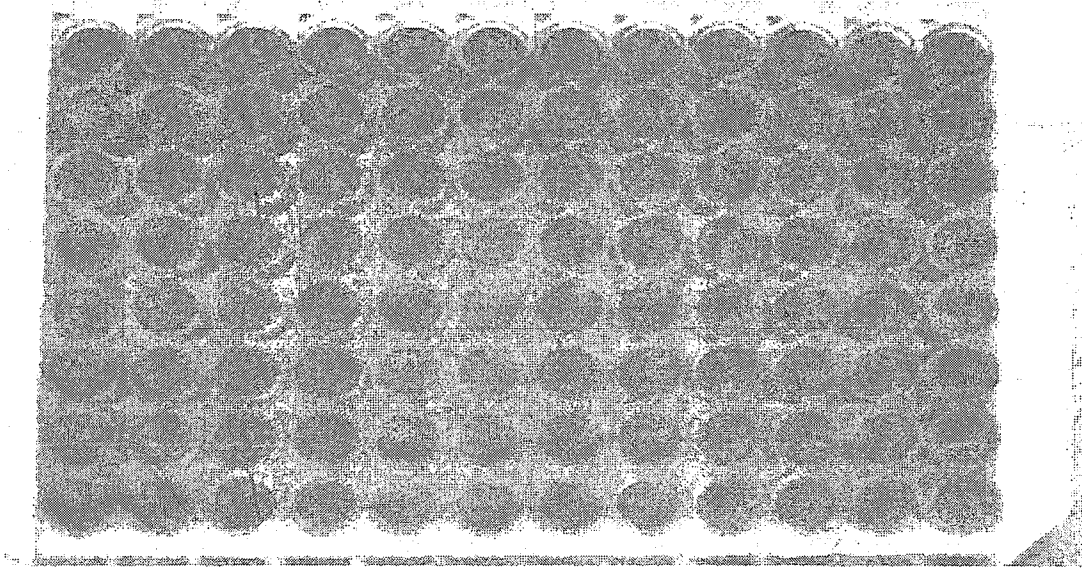
Bu işlemi takiben cihaz bütün bu karışımları barındıran mikropalakayı okuyucuya sevketti. Cihaz çalışmayı bitirdikten sonra test sonuçlarını alabilmek için bilgisayarda açık olan bütün programlar kapatıldı ve sonuçlar görüntülenerek yazıcıdan çıktı alındı.

#### 4.2.6. ELİSA testinin değerlendirilmesi

Mikroplate'ler tek tek incelendi. Koyu renkli renk değişimleri negatif, açık renkli kalan kısımlar ise pozitif olarak değerlendirildi (Resim 4 ve 5). Mikroplate incelemesinden ve yazıcıdan elde edilen pozitif veya negatif test sonuçlarının doğruluğu, negatif kontrol optikal dansitesi (O.D.) ve pozitif kontrol inhibisyon oranı (%I) ile kıyaslanarak, sağlaması yapıldı. Yazıcıdan alınan değerlerin pozitif kontrol inhibisyon oranı (İnhibisyon yüzdesi,  $%I = 100 - [(Serum\ O.D. \times 100) : (Ortalama\ Negatif\ Kontrol\ O.D.)]$  formülü ile hesaplandı. Buna göre; Optikal Dansitesi 0,3 ile 2 değerleri arasında olmalıdır. Kontrol inhibisyon oranı ise % 40 ve üzerinde olan kan serumları pozitif, % 40'dan düşük olan serum örnekleri ise negatif kabul edilerek değerlendirildi.



Resim 4. *Babesia equi*'de ELİSA pleytinde pozitif ve negatif kanallar



Resim 5. *Babesia caballi*'de ELISA pleytinde negatif kanallar





## 5. BULGULAR

Adana ilinde 8 ilçede saha şartlarında klinik olarak muayene edilen 220 adet atın hiçbirinde, babesiosis'te görülen hastalık semptomlarına rastlanmamıştır.

Yapılan mikroskopik bakılarda, sürme frotilerin muayeneleri sonucunda *B. equi* ve *B. caballi*'nin piroplasm formları tespit edilememiştir.

Kompetatif ELİSA ile incelenen kan serumlarında, *B. equi* antikoru ortalama % 56.8 gibi yüksek bir oranda tespit edilmiştir. Buna karşın 220 atın hiçbirisinde *B. caballi* antikoru tespit edilememiştir. Test iki defa tekrar edilmesine rağmen sonucun değişmediği görülmüştür. Adana yöresi atlarında tespit edilen *B. equi*'nin ilçelere göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

İlçe	Serum sayısı	<i>B. equi</i> seropozitif at sayısı	<i>B. equi</i> seronegatif at sayısı	<i>B. equi</i> seropozitif atların yüzdesi (%)
Saimbeyli	14	9	5	64.2
Aladağ	28	14	14	50.0
Feke	16	13	3	81.2
Kozan	33	14	19	42.4
Pozantı	16	9	7	56.2
Karaisalı	42	28	14	66.6
Ceyhan	34	18	16	52.9
Yüreğir	37	20	17	54.0
<b>TOPLAM</b>	<b>220</b>	<b>125</b>	<b>95</b>	<b>56.8</b>

Tablo 2. Adana yöresinde cELİSA testi ile *B. equi* seropozitifliğinin ilçelere göre dağılımı

Atların yaş Grupları	Toplam serum sayısı	cELİSA ile pozitif bulunan serum sayısı ve yüzdesi
4.5 ay-1 yaş arası	6	3 (%50)
2-5 yaş arası	34	14 (%41)
6-10 yaş arası	116	69 (%59)
11-20 yaş arası	58	35 (%60)
21-25 yaş arası	6	4 (%66)

Tablo 3. Atların yaş gruplarına göre *B. equi*'nin cELİSA ile görülme oranları

Kompetetif ELİSA ile *B. equi* pozitif bulunan atların yaşları incelendiğinde (Tablo 3) tüm yaş gruplarında *B. equi* enfeksiyonu görüldüğü ve ileri yaştaki atlarda bu oranın daha yüksek olduğu anlaşılmıştır.

*Babesia equi* 100 dişi atın 60'ünde, 120 erkek atın ise 63'ünde pozitif bulunmuştur. Buna göre erkek ve dişi atlarda *B. equi* pozitiflik oranı 60/52.5'dir.

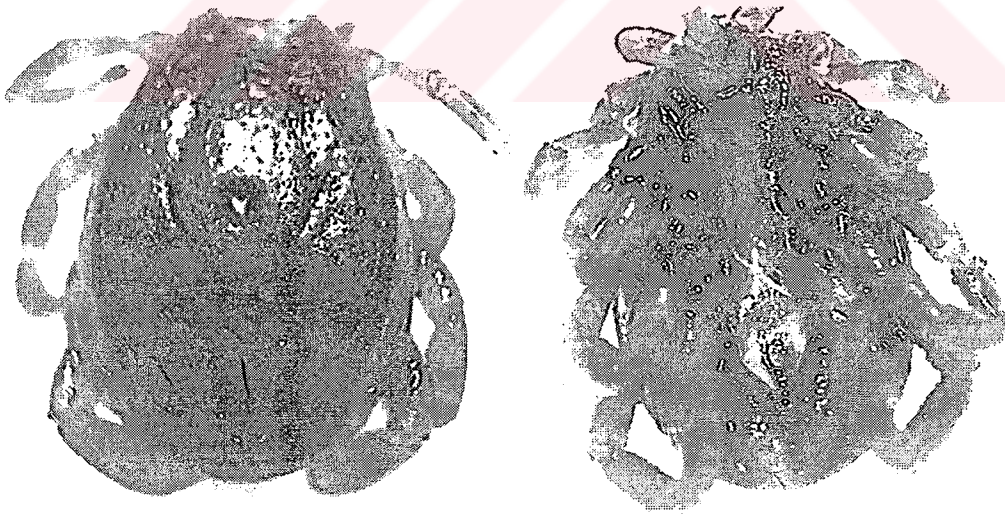
Atlarda yapılan kene muayenesinde, Saimbeyli dışındaki ilçelerde atlar üzerinde kene mücadelesi yapılması (sahiplerinin ifadesi) nedeniyle kene tespit edilememiştir. Saimbeyli ilçesindeki atlardan toplanan 4 dişi ve 7 erkek kenenin yapılan tür teşhislerinde, aşağıda verilen özelliklerine göre bunların *Hyalomma marginatum* (2 dişi, 7 erkek) (Resim 6 a, b), *Rhipicephalus turanicus* (2 dişi) (Resim 7) türlerine ait oldukları anlaşılmıştır.

*Hyalomma marginatum* erkeklerinin koyu kahverengi renkte olan scutumun üzerinde noktalamalar bulunmaktadır. Posteroparamedian oluklar birbirine paralel olup ayak eklemlerinde halka şeklinde açık kahverenkli alanlar vardır. *Hyalomma marginatum* dişilerinin scutumu koyu kahverenkli, arka kısmı biraz basık olup beşgen tarzında ve eni boyuna eşittir. Üzerinde orta ya da çok sayıda belirgin nokta çukurluklarına sahiptir. Servikal olukları derin ve uzun bir şekilde gözlere kadar uzanır. Genital organ büyük ve

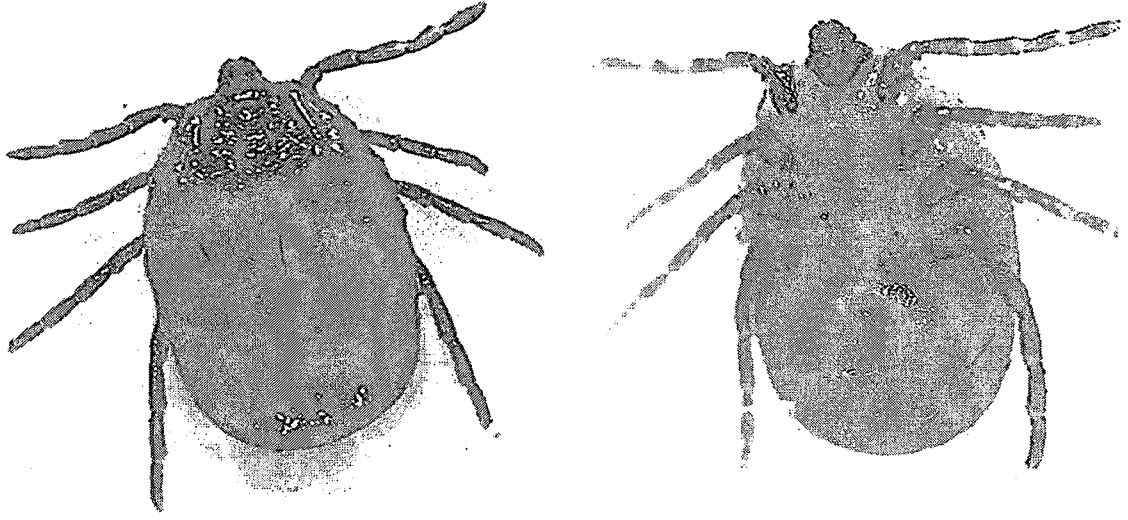
uzunluğuna göre daha geniş, küremsi oval şekildedir. *Rhipicephalus turanicus* dişilerinin palpleri hipostomdan uzun, coxa 1’de derin bir yarığı var, anal oluğu belirgin, festonlu ve gözlü kenelerdir. Poros arealar büyük ve birbirinden uzak konumda ve arka kenarı yuvarlaktır.



Resim 6 a. *Hyalomma marginatum* dişi; dorsal ve ventralden görünüm.



Resim 6 b. *Hyalomma marginatum* erkek; dorsal ve ventralden görünüm.



Resim 7. *Rhipicephalus turanicus* dişi, dorsal ve ventral görünümü.

## 6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kozmopolit bir hastalık olan tektırnaklı babesiosisinin yaygınlığı çeşitli araştırmacılar tarafından mikroskobik olarak çalışılmış olup, *B. equi*'ye dünyada % 9.5-95 (Bashuriddin ve ark 1999, Farah ve ark 2003, Rampersad ve ark 2003), *B. caballi*'ye % 82 (Rampersad ve ark 2003) oranlarında rastlanmıştır. Türkiye'de; *B. equi*'ye % 0.15-58.18 (İnci 1997, Aktaş ve Dumanlı 2000, İnci 2002, Akkan ve ark 2003, Balkaya 2004), *B. caballi*'ye ise % 3-12 (İnci 1997, Aktaş ve Dumanlı 2000, İnci 2002) oranlarında rastlanmıştır.

İFAT ile yapılan çalışmalarda *B. equi* Güney Afrika ve İsrail'de % 29.4-50 (Brüning ve ark 1997, Shkap ve ark 1998) oranlarında, Türkiye'de % 25.7-64.5, *B. caballi* ise % 4.5-11.1 (Akkan ve ark 2003, Balkaya 2004) oranlarında tespit edilmiştir.

KFT ile yapılan çalışmalarda Güney Afrika'da *B. equi* % 60, *B. caballi* 31.6% (Brüning ve ark 1997), Türkiye'de ise *B. equi* % 19.7, *B. caballi* % 0,9 (Balkaya 2004) oranlarında bulunmuştur.

ELİSA ile değişik ülkelerde yapılan çalışmalarda; *B. equi* % 32-89 oranlarında (Brüning ve ark 1997, Shkap ve ark 1998, Xuan ve ark 2001c, Xu ve ark 2003, Baldani ve ark 2004, Boldbaatar ve ark 2005) *B. caballi* ise %32-73.3 (Brüning ve ark 1997, Xu ve ark 2003, Boldbaatar ve ark 2005) oranlarında tespit edilmiştir. Bu çalışmada, mikroskobik muayeneyle *B. equi* ve *B. caballi*'nin piroplasm formları tespit edilememiş, cELİSA metodu ile % 56.8 oranında *B. equi* antikoru tespit edilmiş olup, *B. caballi*'ye rastlanmamıştır.

Atlarda, özellikle akut enfeksiyonlarda, babesiosisin teşhisi için en hızlı ve güvenilir sonucun mikroskobik muayene ile alındığı birçok araştırmada bildirilmiştir



(Güçlü 2003, Kaya 2003, Kumar ve ark 2003b, Anonim 2004, Anonim 2005) Fakat kanda parazit sayısının az olduğu subklinik olaylarda yada atların portör olduğu durumlarda mikroskopik muayene ile *Babesia* etkenlerini görmenin çok zor olduğu çok sayıda kaynakta bildirilmiştir (Kaufmann 1996, Shkap ve ark 1998, Bashuriddin ve ark 1999, Nicolaiewsky ve ark 2001, Güçlü 2003, Kaya 2003, Kumar ve ark 2003b, Tamaki ve ark 2004, Anonim 2005, Boldbaatar ve ark 2005). Nitekim atlarda *Babesia* etkenlerini araştırmak için yapılan mikroskopik çalışmaların bazılarında etken tespit edilememiştir (Avarzed ve ark 1997b, Holman ve ark 1998, Xuan ve ark 1998). Portör atlarda *B. caballi* yönünden PCR ve İFAT testleri ile mikroskopik yöntem karşılaştırılmış, sonuçta; 142 atın 28'i PCR pozitif, 96'sı İFAT pozitif olarak bulunmasına karşın, mikroskopik muayenede örneklerin hiçbirinde etken tespit edilememiştir (Xuan ve ark 1998). Akdeniz bölgesi de dahil olmak üzere, Türkiye genelinde 666 at üzerinde yapılan bir çalışmada mikroskopik muayene ile sadece Bir atta *B. equi*'nin eritrositer formları görülmüştür (Balkaya 2004). Dünyada gerçekleştirilen yukarıdaki çalışmalardakine benzer şekilde, Adana yöresinde 220 at üzerinde yapılan bu çalışmada, mikroskopik olarak bakışı yapılan frotilerin hiçbirinde babesiosis etkenlerine rastlanılmamıştır.

Türkiye'de, bugüne kadar, atlarda babesiosis ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu mikroskopik muayene yöntemiyle yapılmış (Özcan 1961, Aktaş ve Dumanlı 2000, İnci 1997, İnci 2002), serolojik yöntemlerden ise İFAT ve KFT kullanılmış (Akkan ve ark 2003, Balkaya 2004) ancak ELİSA ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma Türkiye'de ELİSA yöntemiyle atlarda babesiosisin varlığını ortaya koyan ilk çalışma olması nedeniyle önemlidir. Çalışmanın sonuçları Adana yöresinde subklinik *B. equi* enfeksiyonlarının yaygın olduğunu ve etkenleri taşıyan atların, enfekte olmayan diğer atlar için potansiyel bir tehlike oluşturduğunu ortaya koymuştur.

*Babesia equi* enfeksiyonlarının *B. caballi* enfeksiyonlarına göre daha fazla görüldüğü değişik kaynak ve çalışmalarda bildirilmiştir (Kaufmann 1996, Aktaş ve Dumanlı 2000, Shkap ve ark 1998, Bashuriddin ve ark 1999, Xu ve ark 2003, Balkaya 2004, Boldbaatar ve ark 2005). Bu çalışmada cELİSA ile incelenen kan serumlarında *B. equi* antikorları %56.8 gibi yüksek oranda tespit edilmiş, buna karşın serumların hiçbirisinde *B. caballi* antikorları tespit edilememiştir (Tablo 2). Bunun nedenleri; ELİSA'da çapraz reaksiyonların çok görülmesi ve endemik bölgelerde *B. equi* enfeksiyonlarında iyileşmeden sonra bağışıklığın yıllarca sürmesi (Shkap ve ark 1998, Martin 1999), buna karşın *B. caballi* enfeksiyonlarında bu sürenin iki yılla sınırlı (Bashuriddin ve ark 1999, Toparlak ve Tüzer 1999) kalmasından kaynaklanmış olabilir.

Kompetitif ELİSA ile *B. equi* pozitif bulgular atların yaşlarıyla kıyaslandığında (Tablo 3) tüm yaş gruplarında *B. equi* enfeksiyonu görüldüğü ve ileri yaştaki atlarda bu oranın daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Bu durum *B. equi* antikorlarının dolaşım kanında çok uzun süre kaldığına dair bulguları (Shkap ve ark 1998, Martin 1999) destekler nitelikte bulunmuştur. Ayrıca, Adana yöresi atlarında *B. equi*'nin tüm yaş gruplarında yaygın görüldüğünü, yaşla orantılı olarak bağışıklığın arttığı düşünülecek olursa (Shkap ve ark 1998, Martin 1999) yaşlı atların enfeksiyonun yayılışında portör rolü oynadığına dair kanaatleri (Bashuriddin ve ark 1999) pekiştirmiştir. Erkek ve dişi atlar arasında *B. equi*'nin bulunuşu yönünden incelendiğinde (60/52.5) erkeklerde bu oran bir miktar fazla bulunmuş olsa da ciddi bir farklılık gözlenmemiştir.

*Boophilus*, *Hyalomma*, *Dermacentor* ve *Rhipicephalus* soylarına bağlı kene türlerinin *B. equi*'ye vektörlük yaptığı bildirilmiştir (Kaufmann 1996, Bashuriddin ve ark 1999, Ramparsed ve ark 2003, Martin 1999, Edwards ve ark 2005). Bu çalışmada sahada muayene edilen atların üzerinden toplanan kene türlerinin (*H. marginatum* ve *R. turanicus*) (Resim 6a, 6b ve 7) Afrika'da *B. equi*'nin vektörü olarak bildirilen (Kaufmann 1996,

Guimaraes ve ark 2003, Edwards ve ark 2005), türlerden olduğu anlaşılmıştır. Türkiye’de *R. turanicus*’un atlar üzerinde görüldüğü bildirilmiştir (Merdivenci 1969). Akdeniz havzasında *B. equi*’ye vektörlük yaptığı bildirilen (Kaufmann 1996, Bashuriddin ve ark 1999) *R. bursa* bu çalışmada elde edilememiştir. Elde edilen kene türlerinin azlığı nedeniyle, yörede *Babesia* enfeksiyonlarının vektörü olabilecek keneler üzerinde daha fazla araştırma yapmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak bu çalışmayla Türkiye’de atlarda babesiosis enfeksiyonların teşhisinde cELISA yöntemi ilk kez kullanılmıştır. Serolojik olarak çok yüksek oranda çıkan *B. equi* enfeksiyonuna karşın, mikroskopik muayene ile tespit edilemeyen subklinik ve kronik enfeksiyonların Adana yöresinde yaygın olduğunu ve portör atların belirlenmesinde serolojik testlerin mikroskopik yöntemlerden daha duyarlı olduğu ortaya konmuştur. Hastalıkla mücadelede, hastalığın önemi ve kene enfestasyonlarının rolü konusunda hayvan sahiplerinin bilgilendirilmesinin de gerekli olduğu kanısına varılmıştır.

## 7. KAYNAKLAR:

**Ak M (1997) Elisa. Kitap:** Özcel MA, Altıntaş N, Ed. *Parazit Hastalıklarında Tanı*. İzmir, Ege Üniv.Basımevi, T Parazitol Dern. Yayın no:15, 241-244.

**Akkan HA, Karaca M, Tütüncü M, Değer S, Keleş I, Ağaoglu Z (2003) Serologic and Microscopic Studies on Babesiosis in Horses in the Eastern Border of Turkey.** JEVS, 23,181-183.

**Aktaş M, Dumanlı N (2000) Malatya Sultansuyu Tarım İşletmesi Atlarında Subklinik Babesia equi ve Babesia caballi Enfeksiyonları,** T Parazitol Derg, 24, 55-56.

**Alibaşoğlu M, Yalçınmer Ş (1965) 1933-1961 Yılları Arasında Ankara ve Yöresinde Atlarda Görülen Hastalıklara Toplu Bir Bakış,** AÜ Vet Fak Derg, 12, 98-111.

**Alkan Z, Özbel Y, Özensoy S, Atambay M (1997) Pcr. Kitap:** Özcel MA, Altıntaş N, Ed. *Parazit Hastalıklarında Tanı*. İzmir, Ege Üniv.Basımevi, T Parazitol Dern Yayın No:15,378-379.

**Anonim (2004) Equine Babesiosis.** Center for Food Security and Public Health, **Erişim:** <http://www.cfsph.iastate.edu> (last updated: Nov.26,2003). **Erişim tarihi:** 01.12.2005.

**Anonim, (2005) Equine Piroplasmosis,** OIE, **Erişim:** <http://www.oie.int>. **Erişim tarihi:** 01.12.2005.

**Avarzed A, Igarashi I, Kanemaru T, Hirumi K, Omata Y, Saito A, Oyamada T (1997a) Improved In vitro Cultivation of Babesia caballi,** J Vet Med. Sci, 59: 479-481.

**Avarzed A, De Wall DT, Igarashi I, Saito A, Oyamada T, Toyoda Y, Suzuki N, (1997b)** *Prevalance of Equine Piroplasmosis in Central Mongolia*, Onderstepoort J Vet Res, 64,141-145.

**Baldani CD, Machado RZ, Botteon PTL, Takakura FS, Massard CL, (2004)** *An Enzyme Linked Immunosorbent Assay for the Detection of IgG Antibodies Against Babesia equi in Horses*, Cienc. Rural, 34, 1525-1529.

**Balkaya İ (2004)** *Türkiye'nin Farklı Bölgelerinde Atlarda B. equi ve B. caballi'nin Yayılışının Mikroskopik ve Serolojik Yöntemlerle Araştırılması*, FÜ Sağlık Bilimleri Enst. Parazitoloji ABD, Doktora tezi.

**Bashuriddin JB, Cama C, Rebelo E (1999)** *Molecular Detection of Babesia equi and Babesia caballi in Horses Blood by PCR Amplification of Part of the 16S rRNA Gen*, Vet Parasitol, 84, 75-83.

**Battsetseg B, Lucero S, Xuan X, Claveria F, Byambaa B, Batur B, Boldbaatar D, Batsukh Z, Khaliunaa T, Battsetseg G, Igarashi I, Nagasawa H, Fujisaki K (2002)** *Detection of Equine Babesia spp. Gene Fragments in Dermacentor nuttali Infesting Mongolian Horses and Their Amplification in Egg and Larval Progenies*, J Vet Med Sci, 64, 727-730.

**Boldbaatar D, Xuan X, Battsetseg B, Igarashi I, Batur B, Batsukh Z, Bayambaa B, Fujisaki K (2005)** *Epidemiological Study of Equine Piroplasmosis in Mongolia*, Vet Parasitol, 27, 35-38

**Brüning A (1996)** *Equine Piroplasmosis an Update on Diagnosis, Treatment and Prevention*. Br Vet J, 152, 139-151.

**Brüning A, Phipps P, Posnett E (1997)** *Monoclonal Antibodies Against Babesia caballi and Babesia equi and Their Application in Serodiagnosis*. Vet Parasitol, 68, 11-26.

**Cox FEG (1998)** *Babesiosis and Malaria*, **Kitap:** Palmer SR, Lord Soulsby and Simpson DIH, Eds. *Zoonoses Biology, Clinical Practice and Public Health Control*. New York, Oxford University Press, 599-601.

**Dumanlı N (2002)** *Veteriner Protozooloji Ders Notları*, FÜ Vet Fak Ders Teksiri No:54, Elazığ.

**Edwards RZ, MooreH, LeRoy BE (2005)** *Equine Babesiosis - Review*, **Erişim:** <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/edwards>, **Erişim tarihi:** 01.12.2005.

**Farah AW, Hegazy NA, Romany MM, Soliman YA, Daoud AM (2003)** *Molecular Detection of Babesia equi in Infected and Carrier Horses by Polymerase Chain Reaction*, Egypt J Immunol, 10, 73-79.

**Gören S, Yetkin R (1935)** *Tektırnaklılarda, Sığırda, Koyunda, Keçide ve Köpekte Piroplasmosis*, Ankara, MMB Baytar Bak Ser ve Aşı Evi Yayın.

**Guimaraes AM, Lima JD, Ribeiro MFB (2003)** *Ultrastructure of Babesia equi Trophozoites Isolated in Minas Gerais, Brazil*, Pesq Vet Bras, 23,101-104.

**Güçlü F (2003)** *Parazitoloji Teşhis Metodları*, Konya, SÜ. Vet Fak Yayın Ünitesi.

**Hailat NQ, Lafi SQ, Al-Darraji AM, Al-Ani FK (1997)**, *Equine Babesiosis Associated With Strenuous Exercise: Clinical and Pathological Studies in Jordan*, Vet Parasitol, 69,1-8.

**Hirata H, Xuan X, Yokoyama N, Nishikawa Y, Fujisaki K, Suzuki N, Igarashi I (2003)** *Identification of a Specific Antigenic Region of the P82 Protein of Babesia equi and Its Potential Use in Serodiagnosis.* J Clin Microbiol, 41, 547-551.

**Holman PJ, Becu T, Bakos E, Polledo G, Cruz D, Wagner GG (1998)** *B. equi Field Isolates Cultured from Horse Blood Using a Microcentrifuge Method,* J Parasitol, 84, 696-699.

**Huang X, Xuan X, Xu L, Zhang S, Yokoyama N, Suzuki N, Igarashi I (2004)** *Development of an Immunochromatographic Test with Recombinant EMA-2 for the Rapid Detection of Antibodies Against Babesia equi in Horses,* J Clin Microbiol, 42, 359-361.

**İnci A (1997),** *Gemlik Askeri Hara Atlarında Babesia caballi ve Babesia equi'nin Mikroskopik Muayeneye Saptanması,* Tr J Vet Anim Sci, 21, 43-46.

**İnci A (2002)** *Kayseri Yöresinde Tektirnaklılarda B. equi ve B. caballi'nin Yaygınlığının Mikroskopik Muayeneye Araştırılması,* FÜ Sağlık Bilimleri Dergisi, 16, 85-88.

**Karaer Z, Yukarı BA, Aydın L (1997).** *Türkiye Keneleri ve Vektörlükleri. Kitap:* Özcel, MA, Daldal N, Ed. *Parazitoloji'de Artropod Hastalıkları ve Vektörler,* İzmir, Ege Üniv. Basımevi, T Parazit Dern Yayın No:13, 363-433.

**Kaufmann J (1996)** *Parasitic Infections of Domestic Animals,* Berlin, Birkhauser Verlag.

**Kaya G (2003)** *Parazitoloji Temel İlkeler ve Laboratuar Teknikleri,* Antakya, MKÜ Vet Fak Yayın. No, 16/1.

**Kaya G (2005)** *Antiparaziter İlaçlar ve Kullanım Stratejileri*, 1. Baskı, Antakya, Doğu Basımevi, MKÜ Vet Fak Yayın No, 17/2.

**Kerber CE, Ferreira F, Pereira MC (1999)** *Control of Equine Piroplasmiasis in Brazil*, Onderstepoort J Vet Res, 66,123-127.

**Knowles DP Jr. (1996)** *Control of Babesia equi Parasitemia*, Parasitol Today, 12, 195-198.

**Kuman HA (1997)** *Kompleman Fiksasyon Reaksiyonu*. **Kitap:** Özcel MA, Altıntaş N, Ed. *Parazit Hastalıklarında Tanı*. İzmir, Ege Üniv.Basımevi, T Parazitol Dern. Yayın no:15,183-192

**Kumar S, Malhotra DV, Nichani AK (2002a)** *İdentification of Immunoreactive Polypeptides of Babesia equi Parasite During Immunization*, Vet Parasitol, 107, 295-301.

**Kumar S, Malhotra DV, Dhar S, Nichani AK (2002b)** *Vaccination of Donkeys Against Babesia equi Using Killed Merozoite Immunogen*, Vet Parasitol, 106, 19-33.

**Kumar S, Gupta AK, Pal Y, Dwivedi SK (2003a)** *İnvivo Therapeutic Trial With Aartemisinin Derivative Buparvaquone and İmidocarb Dipropionate Against Babesia equi İnfection in Donkeys*, J Vet Med Sci, 65, 1171-1177.

**Kumar S, Kumar Y, Malhotra DV, Dhar S, Nichani AK (2003b)** *Standardisation and Comparison of Serial Dilution and Single Dilution ELISA Using Different Aantigenic Preparations of the Babesia equi Parasite*, Vet Res, 34, 71-83.

**Levine ND (1985)** *Veterinary Protozoology*, 1 th Edition, Ames, Iowa State University Press.



**Martin (1999)** *Equine Proplasmiasis: The Temporary Importation of Seropositive Horses Into Australia*, Aust Vet J, 77, 308-977.

**Merdivenci (1969)** *Türkiye Keneleri Üzerine Araştırmalar*, İstanbul, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fak Yayın No: 1488/3

**Mimioğlu M, Göksu K, Sayın F (1968)** *Veteriner ve Tıbbi Protozooloji*, Ankara, 1. Cilt, AÜ Vet Fak Yayın No: 232/134.

**Moltmann UG, Mehlhorn H, Schein E, Rehbein G, Voight WP and Zwegarth E (1983)** *Fine Structure B. equi within Lymphocytes and Erythrocytes of Horses: An In vivo and In vitro Study*, J Parasitol 69, 111-120.

**Nalbantoğlu S (2005)** *Protozoon Hastalıklarında Tedavi. Kitap: Burgu A, Karaer Z Ed. Veteriner Hekimlikte Parazit Hastalıklarında Tedavi*, İzmir, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, T Parazitol Dern Yayın No: 19, 73-77.

**Nicolaiewsky TB, Richter MF, Lunge VR, Cunha CW, Delagostin OD, Ikuta N, Fonseca AS, Silva SS, Ozaki LS (2001)** *Detection of Babesia equi by Nested PCR*, Vet Parasitol, 101, 9-21.

**Özcan HC (1961)** *Ankara Civarında Evcil Hayvanlarda Ggörülen Piroplasmiasis Vakaları ve Tedavileri Üzerine Araştırmalar*, AÜ Vet Fak Yayın. No, 43, Ankara.

**Özcel MA, Üner A, Ertuğ S (1997)** *İmmun Floresan Yöntemi. Kitap: Özcel MA, Altıntaş N, Ed. Parazit Hastalıklarında Tanı*. İzmir, Ege Üniv.Basımevi, T Parazitol Dern. Yayın No:15, 215–239

**Rampersad J, Cesar E, Camphell MD, Samlal M, Ammons D (2003)** *A Field Evaluation of PCR for The Routine Detection of Babesia equi in Horses*, Vet Parasitol, 114, 81-7.

**Shkap V, Cohen I, Leibovitz B, Savitsky, Pipano E, Avni G, Shofer S, Giger U (1998)** *Seroprevalance of Babesia equi Among Horses in Israel Using Competitive Inhibition ELISA and IFA Assays*, Vet Parasitol, 76, 251-259.

**Tamaki Y, Hirata H, Takabatake N, Bork S, Yokoyama N, Xuan X, Kujisaki K, Igarashi I (2004)** *Molecular Cloning of Babesia caballi Gene Encoding the 134-kd Protein and Evaluation of Its Diagnostic Potential in an ELISA*, Clin Diagn Lab Immunol Jan, 11, 211-215.

**Tanaka T, Xuan X, Ikadai H, Nagasawa H, Fujisaki K, Mikami T, Suzuki N (1999)** *Expression of Babesia equi Merozoite Antigen- 2 by Recombinant Baculovirus and Its Use in the ELISA*. Int J Parasitol, 29, 1803-1808.

**Toparlak ve Tüzer (1999)** *Veteriner Protozoloji*, İstanbul. İÜ Yayınları Ders Notu No:105.

**Türkiye İstatistik Yıllığı (2000)** TC Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Yayınları. 2390, Ankara, Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası.

**VMRD (2005)** VMRD, *Babesia equi and B. caballi cELISA Kit Procedure*. Erişim: [www.vmr.com/products/test\\_kits/detail/](http://www.vmr.com/products/test_kits/detail/) Erişim tarihi: 01.12.2005

**Xu Y, Zhang S, Huang X, Bayin C, Xuan X, Igarashi I, Fujisaki K, Kabeya H, Maruyama S, Mikami T (2003)** *Seroepidemiologic Studies on Babesia equi and Babesia caballi Infections in Horses in Jilin Province of China*, J Vet Med Sci, 65, 1015-1017.

**Xuan X, Igarashi I, Avarzed A, Ikadai H, Inoue N, Nagasawa H, Fujisaki K, Toyoda Y, Suzuki N (1998) *Diagnosis of Babesia caballi Infection in Horses by PCR*, Poster Sessions / Parasitology International 47 (Suppt.), 375.**

**Xuan X, Nagai A, Battsetseg B, Fukumoto S, Makala LH, Inoue N, Igarashi I, Mikami T, Fujisaki K (2001a) *Diagnosis of Equine Piroplasmosis in Brazil by Serodiagnostic Methods with Recombinant Antigens*. J Vet Med Sci.,63, 1159-60.**

**Xuan X, Igarashi I, Tanaka T, Fukumoto S, Nagasawa H, Fujisaki K, Mikami T (2001b) *Detection of Antibodies to Babesia equi in Horses by Latex Agglutination Test Using Recombinant EMA*, Clin Diagn Lab Immunol, 8, 645-646.**

**Xuan X, Larsen A, Ikadai H, Tanaka T, Igarashi I, Nagasawa H, Fujisaki K, Toyoda Y, Suzuki N, Mikami T (2001c) *Expression of Babesia equi Merozoite Antigen 1 in Insect Cells by Recombinant Baculovirus and Evaluation of Its Diagnostic Potential ELISA*, J. Clinic. Microb.705-709**

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Diyarbakır ili Çermik ilçesinde doğdu. İlk ve ortaokul öğrenimini Adana'da tamamladı, 1991 yılında İstanbul Veteriner Sağlık Meslek Lisesi ve 1997 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldu. 2004 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Parazitoloji programında yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde Parazitoloji ve PCR laboratuvarında çalışmaktadır. Evli ve bir çocuk babasıdır.

