



T.C.

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

**SAMSUN YÖRESİ MANDALARINDA *SARCOCYSTIS*
TÜRLERİNİN MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ahmet Kadir SAYILIR

**Samsun
Aralık-2017**



T.C.

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VETERİNERLİK PARAZİTOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**SAMSUN YÖRESİ MANDALARINDA *SARCOCYSTIS*
TÜRLERİNİN MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ahmet Kadir SAYILIR

Danışman

Prof. Dr. Mustafa AÇICI

Samsun

Aralık-2017

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Veteriner Hekim Ahmet Kadir SAYILIR tarafından Prof. Dr. Mustafa AÇICI Danışmanlığında hazırlanan SAMSUN YÖRESİ MANDALARINDA *SARCOCYSTIS* TÜRLERİNİN MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 15 /12 /2017 tarihinde yapılan sınav ile Veterinerlik Parazitolojisi Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: **Prof.Dr. Şinasi UMUR**
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : **Prof.Dr. Mustafa AÇICI** (Danışman)
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : **Prof.Dr. Ayşe Serpil NALBANTOĞLU**
Ankara Üniversitesi

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /.....

Prof.Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Öncelikle Danışmanım Prof. Dr. Mustafa AÇICI'ya tez çalışmalarım boyunca katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Çalışmalarımız süresince bilgi ve deneyimlerini paylaştan Prof. Dr. Şinasi UMUR'a müteşekkirim.

Tezimin laboratuvar çalışmalarının her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Cenk Soner BÖLÜKBAŞ'a, Doç.Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ'ye, Vet. Hek. Neslihan AKBULUT'a ve Vet. Hek. Elif Burcu GENÇAY'e teşekkür ederim.

Tez ile ilgili numunelerin toplanması sırasında her türlü kolaylığı sağlayan Bafra Mezbahası çalışanlarına teşekkür ederim.

Yüksek Lisans süresince her konuda yanımda olan eşim İnci Hülya SAYILIR'a, moral katkılarından dolayı oğlum Yağız Alp SAYILIR'a ve bütün aileme desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

ÖZET

SAMSUN YÖRESİ MANDALARINDA *SARCOCYSTIS* TÜRLERİNİN MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Amaç: *Sarcocystis* enfeksiyonuna neden olan *Sarcocystis* türleri insan dahil, evcil ve yabani hayvanlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı Samsun yöresinde 2015-2016 yılları arasında mandalarda enfeksiyona neden olan *Sarcocystis* türlerinin makroskobik, mikroskobik ve moleküler yöntemlerle belirlenmesidir.

Materyal ve Metot: Çalışmada, Samsun Bafra Mezbahasında kesimi yapılan ve rastgele seçilen 105 mandadan değişik kas dokusu (özefagus, kalp, dil ve interkostal kas) örnekleri alındı. Alınan örnekler tripsin sindirim yöntemi ile parçalanarak mikroskopta incelendi. Bu doku örneklerinden DNA ekstraksiyonları yapıldı, pozitif çıkan örneklerde *Sarcocystis* spp.'nin değişken 18S rDNA gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı ve Dra1, Ssp1, Bsl1 ve Fok1 sindirim enzimleri kullanılarak yapılan PCR-RFLP ile türlerin tanısı konuldu.

Bulgular: Çalışmada % 18 mandada *Sarcocystis* makrokisti saptandı. Toplamda 70 (% 70.47) mandanın *Sarcocystis* spp. ile enfekte olduğu belirlendi. Dokulara göre enfeksiyon oranları sırayla özefagusta % 83.7, kalpte % 77 ve interkostal kaslarda % 66.2 olarak kaydedildi. *Sarcocystis* enfeksiyonu yönünden erkek ve dişiler arasında bir fark olmayıp, genç ve yaşlı hayvanlar arasında istatistiksel farklılık görüldü ($P < 0.05$). Çalışmada PZR-RFLP ile *Sarcocystis fusiformis*, *S. cruzi* ve *Sarcocystis* spp. türleri tespit edildi. Türlerle göre enfeksiyon prevalans oranları, *S. cruzi* % 50, *S. fusiformis* % 45.8 ve *Sarcocystis* spp. % 4.2 olarak saptandı. Çalışmada belirlenen türlerden *S. fusiformis* ve *S. cruzi* PZR-RFLP ile Türkiye'de mandalarda ilk kez rapor edilmektedir.

Sonuç: Sonuç olarak *Sarcocystis* türleri Samsun yöresinde mandalarda yaygın olarak bulunmuştur. Mandalarda saptanan türlerin epidemiyolojileri ile ilgili Türkiye'de daha geniş çalışmalar yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Manda; PCR; RFLP; Samsun; *Sarcocystis*; Türkiye

Ahmet Kadir SAYILIR (Yüksek Lisans Tezi)
Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun, Aralık-2017

ABSTRACT

DETERMINATION OF *SARCOCYSTIS* SPECIES IN WATER BUFFALOES BY MORPHOLOGIC AND MOLECULAR METHODS IN SAMSUN PROVINCE

Aim: *Sarcocystis* species are widespread among domestic and wild animals, and including humans. The aims of this study were to identify the occurrence of *Sarcocystis* infections in water buffaloes from Samsun by macroscopical, microscopical examinations and molecular techniques during the years 2015-2016.

Material and Method: The samples of muscles from 105 water buffaloes at the slaughterhouse from Bafra were randomly taken and analyzed. For this purpose, the oesophagus, heart, tongue and intercostal muscles were chosen. The samples were examined by digestion method using Trypsin technique for detecting *Sarcocystis* parasite by light microscope. The DNA extractions were performed from tissue samples. The variable regions of the 18S rRNA gene product of *Sarcocystis* species were used for the PCR-RFLP analyses. The amplified PCR products were digested separately with four restriction enzymes (Dra1, Ssp1, Bsl1 and Fok1).

Results: In this study, *Sarcocystis* macrocysts were found in 19 (18%) of water buffaloes. The overall positive rate for *Sarcocystis* spp. in samples were found in 74 (70.47%) of water buffaloes by using the PCR. Furthermore, *Sarcocystis* spp. DNA was detected from the oesophagus of 83.7%, heart of 77%, intercostal muscle of 66.2% of the slaughtered animals. For *Sarcocystis* spp. infection, there was no significant difference ($p>0.05$) between male and female, but the differences in prevalence between the younger and older animals were significant ($p<0.05$). Three species namely, *Sarcocystis fusiformis*, *S. cruzi* and *Sarcocystis* spp. were detected by using the PCR-RFLP. In this study, the prevalence rate was 50% for *S. cruzi*, 45.8% for *S. fusiformis* and 4.2% for *Sarcocystis* spp.

Conclusion: To our knowledge, this is the first record of the presence of *S. fusiformis* and *S. cruzi* by the PCR-RFLP in water buffalo in Turkey. In conclusion, *Sarcocystis* infection was shown to be common in water buffaloes in Samsun. Further water buffalo epidemiological surveys are required in Turkey to get a better understanding of the epidemiology of the *Sarcocystis* species.

Keywords: *Bubalus bubalis*; PCR; PCR-RFLP; Samsun; *Sarcocystis*; Turkey

Ahmet Kadir SAYILIR (Master Thesis)
Ondokuz Mayıs University-Samsun, Aralık-2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bp:	Base pair
Bsl1:	<i>Bacillus</i> species
> :	Büyüktür
Cc:	Santilitre
°C:	Santigrat
Cm:	Santimetre
Dk:	Dakika
DNA:	Deoksiribo nükleik asit
Dra1:	<i>Deinococcus radiophilus</i>
ELISA:	Enzim Linked Immunosorbent Assay
Fok1:	<i>Floavobacterium okeanoites</i>
G:	Gram
HCl:	Hidroklorik asit
H₂O:	Dihydrogen Monoxide
HE:	Hematoksilen- eozin
IBM:	International Business Machines
IHA:	İndirekt Hemaglutinasyon
IgG:	İmmunglobulin G
IgM:	İmmunglobulin M
Kg:	Kilogram
K₂HPO₄:	Dipotassium phosphate
< :	Küçüktür
ml:	Mililitre
mm:	Milimetre
µm:	Mikrometre
Mg:	Miligram
NaCl:	Sodyum klörür
Na₂HPO₄:	Disodium hydrogen phosphate
P:	Probability
PAS:	Periodic Acid Schiff
pH:	Potential of Hydrogen
PCV:	Packed cell volume
PZR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RAPD:	Random Amplified Polymorphism DNA
Pmol:	Pikomol
rRNA:	Ribozomal ribonükleik asit
RFLP:	Restriction Fragment Length Polymorphism
Sn:	Saniye
Spss:	Statistical Package for the Social Sciences
Ssp1:	<i>Sphaerotilus</i> species
TEC:	Total erythrocyte count
U:	Ünite
V:	Volt



TABLolar LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1. Türkiye’de mandalarda makroskopik sarkokistlerin dağılımı	15
Tablo 2. Türkiye’de mandalarda mikroskopik sarkokistlerin dağılımı	15
Tablo 3. PCR amplifikasyon protokolü	27



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Dünyada bilinen <i>Sarcocystis</i> enfeksiyonlarının arakonak ve kesin konaklardaki oranları	1
Şekil 2. <i>S. cruzi</i> 'nin yaşam döngüsü	4
Şekil 3. <i>Sarcocystis</i> spp.'nin yaşam döngüsünde endopoligeni	5
Şekil 4. Kan dolaşımında <i>S. bovicanis</i> merozoitleri	6
Şekil 5. <i>S. fusiformis</i> sarkokistleri	7
Şekil 6. Manda sarkokistleri ile enfekte köpek dışkılarından alınan ookistler	9
Şekil 7. Son konaktan dışkı ile atılan sporokist	9
Şekil 8. <i>S. ovifelis</i> sporozoitinde uzunlamasına kesit	10
Şekil 9. Manda özefagusundan alınan <i>S. fusiformis</i> kistleri	11
Şekil 10. <i>Sarcocystis</i> türleri ve kist duvarı yapıları	11
Şekil 11. <i>Sarcocystis</i> spp.'de kist yapısı	12
Şekil 12. <i>S. fusiformis</i> kisti	12
Şekil 13. <i>Sarcocystis</i> enfeksiyonunda bulaşma	13
Şekil 14. İnsanda iskelet kasında sarkokist	18
Şekil 15. Filogenetik 18S rRNA sekans analizine göre <i>Sarcocystis</i> türleri	22
Şekil 16. Sarcocystosiste (<i>S. cruzi</i> enfeksiyonu) post mortem lezyonlar	23
Şekil 17. Metrositler ve kaslarda myositis	24
Şekil 18. Özefagusta farklı büyüklükte <i>Sarcocystis</i> spp. makrokistleri	29
Şekil 19. Özofagusta <i>S. fusiformis</i> makrokistinin ölçüleri	29
Şekil 20. Giemsa ile boyanmış <i>S. fusiformis</i> bradizoitleri	30
Şekil 21. Özefagusta <i>S. fusiformis</i> makrokist kesiti	30
Şekil 22. Kalpte <i>Sarcocystis</i> spp. mikrokistleri	30
Şekil 23. Dilde <i>Sarcocystis</i> spp. mikrokistleri	31
Şekil 24. Interkostal çizgili kaslarda <i>Sarcocystis</i> spp. mikrokistleri	31
Şekil 25. Özefagusta <i>Sarcocystis</i> spp. mikrokistleri	31
Şekil 26. Mandalarda doku örneklerine uygulanan PCR işlemi sonucu <i>Sarcocystis</i> spp. jel elektroforez görüntüleri	32

Şekil 27.	Samsun yöresi mandalarında <i>Sarcocystis</i> izolatlarının Dra1 endonükleaz enzimi ile kesilmesi işlemi sonucunda jel elektroforez görüntüleri	33
Şekil 28.	Samsun yöresi mandalarında <i>Sarcocystis</i> izolatlarının Bsl1 endonükleaz enzimi ile kesilmesi işlemi sonucunda jel elektroforez görüntüleri	33
Şekil 29.	Samsun yöresi mandalarında <i>Sarcocystis</i> izolatlarının Ssp1 endonükleaz enzimi ile kesilmesi işlemi sonucunda jel elektroforez görüntüleri	34
Şekil 30.	Samsun yöresi mandalarında <i>Sarcocystis</i> izolatlarının Fok1 endonükleaz enzimi ile kesilmesi işlemi sonucunda jel elektroforez görüntüleri	34

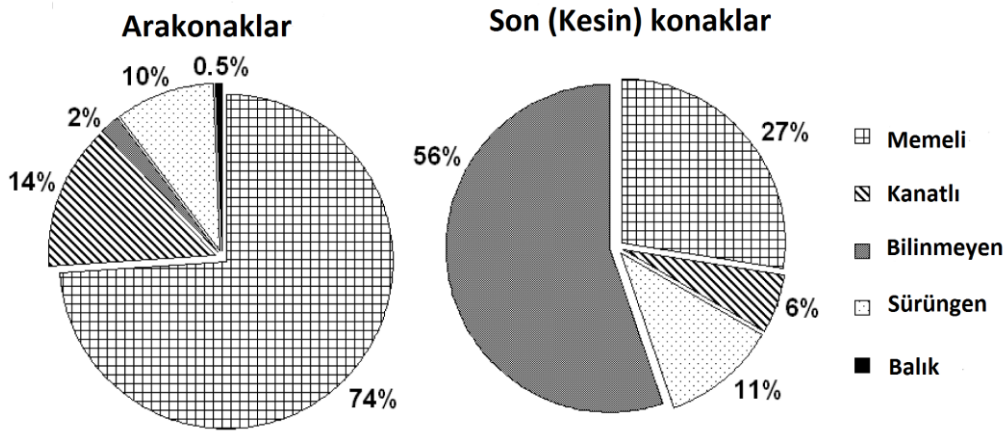
İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
İÇİNDEKİLER	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2. 1. Sınıflandırma	2
2.2. Tarihçe	2
2. 3. Sarcocystis Enfeksiyonunun Önemi	2
2. 4. Etiyoloji	3
2. 4. 1. Sarcocystis Türlerinin Yaşam Döngüsü	3
2. 4. 2. Morfoloji	8
2. 5. Epidemiyoloji	12
2. 5. 1. Arakonaklarda Sarcocystis Enfeksiyonunun Prevalansı	13
2. 5. 2. Son Konaklarda Sarcocystis Türlerinin Prevalansı	16
2. 6. Sarcocystosiste Klinik Semptomlar	16
2. 6. 1. Arakonaklarda Klinik Semptomlar	16
2. 6. 2. Son Konaklarda Klinik Semptomlar	17
2. 7. Sarcocystosiste Patogenez	18
2. 8. İmmunite	19
2. 9. Sarcocystosisin Ekonomik Önemi	19
2. 10. Tanı	20
2. 10. 1. Klinik Tanı	20
2. 10. 2. Arakonaklarda Mikroskopik Tanı	20
2. 10. 3. Serolojik Tanı	20
2. 10. 4. Moleküler Tanı	21
2. 10. 5. Histolojik ve Patolojik Tanı	23
2. 11. Sarcocystosisin Tedavi ve Kontrolü	24
2. 11. 1. Arakonaklarda Tedavi ve Koruma	24

2. 11. 2. Sonkonaklarda Enfeksiyon Kontrolü.....	24
3. MATERYAL VE METOT	26
3. 1. MATERYAL	26
3. 2. METOT.....	26
3. 2. 1. Kistli dokuların parçalanması ve mikroskopik muayenesi	26
3. 2. 2. Kistlerin mikroskopik ve histolojik muayenesi	26
3. 2. 3. DNA ekstraksiyonu	27
3. 2. 4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	27
3. 2. 5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu – Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) (PZR-RFLP)	28
3. 2. 6. İstatistiksel Değerlendirme.....	28
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	38
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ.....	48

1. GİRİŞ

Sarcocystosis (Sarcosporidiosis), pek çok memelide, özellikle de herbivor ve kanatlılarda iskelet ve kas fibrilleri içerisinde yerleşen, muz dilimi şeklinde bradizoitler içeren kistler olarak adlandırılan ve zorunlu heteroksen olan *Sarcocystis* türleri tarafından oluşturulan, ekonomik öneme sahip bir hastalık olarak tanımlanmıştır (Chen ve ark., 2011; Dubey ve Lindsay, 2006; Mehlhorn, 2008; Makhija, 2012; Hajimohammadi ve ark., 2014a; Hornok ve ark., 2015). *Sarcocystis* türleri insan dahil memeli, kanatlı, sıcakkanlı hayvanlar, koyun, keçi, sığır, manda, deve, tek tırnaklı, domuz, kanatlılar, maymun, fare, tavşan, geyik, ayı balığı ve çeşitli sürüngenlerde bulunduğu bildirilmiştir (Dubey ve ark., 1999; Malakauskas ve Grikienienė, 2002; Kutkiene ve ark., 2012; Calero-Bernal ve ark., 2015; Roberts ve ark., 2015). Şimdiye kadar 220 *Sarcocystis* türü bildirilmiştir (Prakas ve Butkauskas, 2012). Son yıllara kadar yapılan çalışmalarda tespit edilen *Sarcocystis* enfeksiyonlarının arakonak ve son konaklardaki oranları Şekil 1 de verilmiştir (Prakas ve Butkauskas 2012).



Şekil 1. Dünyada bilinen *Sarcocystis* enfeksiyonlarının arakonak ve kesin konaklardaki oranları (Prakas ve Butkauskas, 2012'dan uyarlanmıştır)

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sınıflandırma

Sarcocystis cinsinin sınıflandırılması aşağıdaki gibidir (Levine, 1986; Gillis, 1993).

Kök: Apicomplexa, Levine, 1970

Sınıf: Sporozoasida, Leuckart, 1879

Dizi: Eucoccidiorida, Leger and Duboscq, 1910

Aile: Sarcocystidae, Poche, 1913

Cins: *Sarcocystis*, Lankester, 1882

2.2. Tarihçe

Sarcocystis kistleri ilk kez 1843 yılında Meischer tarafından ev farelerinin iskelet kaslarında Miescher'in tüpleri olarak rapor edilmiş, 1882 yılında Lankester bunu domuzlarda *Sarcocystis* cinsi olarak belirlemiştir (Levine, 1986). Zaman içerisinde *Sarcocystis* türlerinin bulunduğu konağa göre isimlendirilme yapılmış, kesin konaklardaki gelişmeleri göz önünde tutularak, *Sarcocystis cruzi* = *Sarcocystis bovicanis*, *Sarcocystis hirsuta* = *Sarcocystis bovifelis*, *Sarcocystis tenella* = *Sarcocystis ovifelis* gibi arakonak-sonkonak birlikte yeni bir sınıflandırma tavsiye edilmiştir (Gillis, 1993; Heydorn ve ark., 1975; Ndiritu, 1994). Ancak yinede farklı arakonaklarda bulunan *Sarcocystis* türlerinin aynı tür sonkonak kullanmaları nedeniyle, *Sarcocystis*lerin spesifik kist duvarlarının spesifik morfolojilerine göre türlerin ayırımına gidilmiştir (Cawthorn ve Speer, 1990). Ancak kist duvarlarının morfolojik yapılarında da benzerlikler saptanmış, genetik ve biyokimyasal özellikleri dikkate alınarak türlerin belirlenmesi tercih edilmiştir (Ford ve ark., 1987). Son yıllarda sığırlarda ve mandalarda enfeksiyona neden olan *Sarcocystis* türlerinin filogenetik analizleri yapılarak GenBank'ta kayıt altına alınmışlardır (Jehle ve ark., 2009; Gjerde, 2013; El-Seify ve ark., 2014; Hajimohammadi ve ark., 2014b).

2.3. *Sarcocystis* Enfeksiyonunun Önemi

Türkiye'de manda populasyonunun en yoğun olduğu bölgeler Karadeniz Bölgesi, Marmara Bölgesi ve Kuzeydoğu Anadolu bölgeleridir. Son yıllarda göreceli olarak azalmış olsa da manda yetiştiriciliği yine eti ve sütü ile hayvancılık ekonomisine önemli katkı yapmaktadır (Yılmaz ve ark., 2012). Sığırlarda *S. cruzi*'nin oldukça patojen bir tür olduğu,

enfeksiyondan 23–54 gün sonra hayvanlarda anoreksi, kaşeksi, anemi ve kalp atışlarında hızlanma görülebildiği, deneysel olarak enfekte edilen ineklerde de abort gelişebildiği belirtilmiş, *S. cruzi*'nin birinci nesil merozoitlerin sığırlarda sadece hafif bir beden ısısı artışına sebep olmasına rağmen, ikinci nesil merozoitlerinin daha patojen olduğu ileri sürülmüştür (Levine, 1985; 1986). Ayrıca, gittikçe artan bir zayıflama ile kaslarda eozinofilik myositis ve sertlik meydana geldiği, hatta ölüme bile yol açtığı bilinmektedir (Granstrom, 1988; Griffiths, 1978). *Sarcocystis hominis*'in zoonoz enfeksiyonlara yol açtığı, insanlara enfekte domuz ve sığır eti ile veya kontamine yiyeceklerle bulaştığı ve enfeksiyon sonucu dışkı ile çıkardıkları sporokistlerle danaların enfekte oldukları gözlenmiştir (Nichols, 1999).

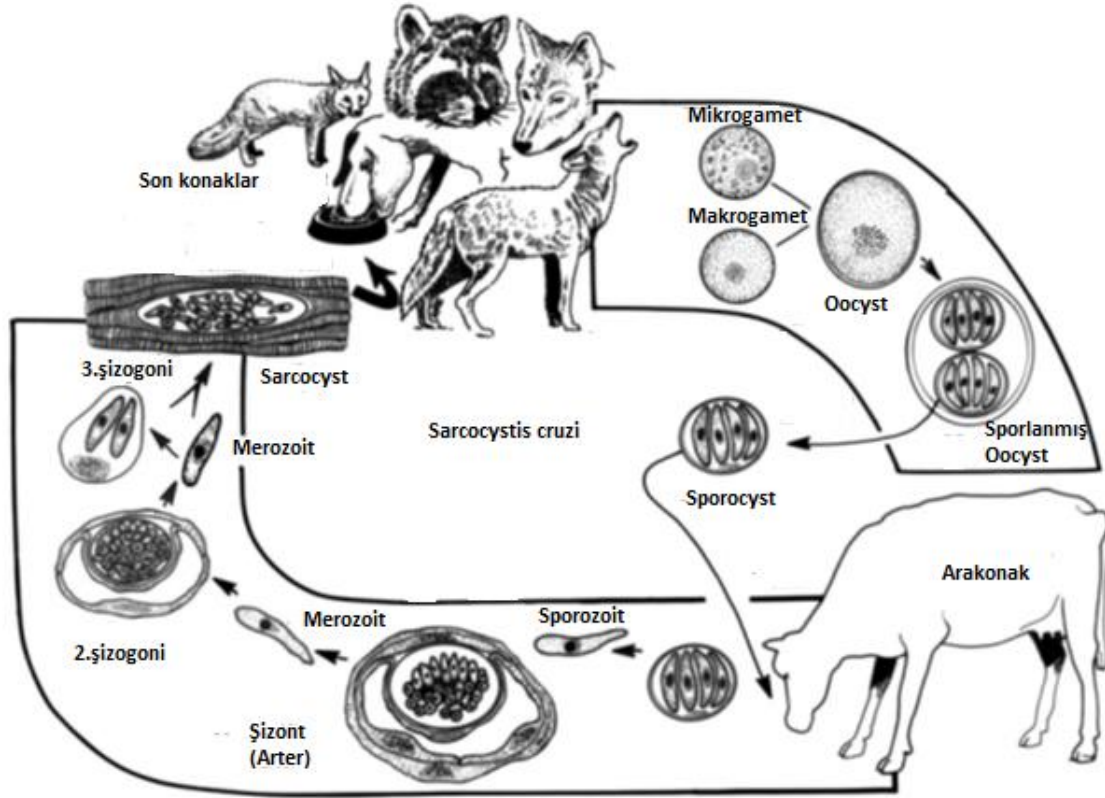
2. 4. Etiyoloji

Ruminantlardaki *Sarcocystis* enfeksiyonu ender olarak insan olmak üzere genellikle köpek veya kedigillerle taşınan, protozoer bir enfeksiyon olup, intraselüler gelişim gösteren değişik türleri sıcak kanlı hayvanlarda ve sürüngenlerde enfeksiyon yapmaktadır (Ford ve ark., 1987; Frenkel, 1989). *Sarcocystis* spp. arakonak dokularında kistlenen, son konaklarla sporocyst şeklinde dışarıya atılan coccidial bir etkidir (Dubey ve ark., 1988; Leek ve Fayer, 1983; Malakauskas ve Grikienienė, 2002; Mehlhorn, 2011; Chhabra ve Samantaray, 2013). Makroskobik kist oluşturan ve kedilerin son konak olduğu *Sarcocystis fusiformis* (Railliet, 1897) ile *Sarcocystis buffalonis* (Huong, Dubey, Nikkilä ve Uggla, 1997), köpeklerin son konak olduğu *Sarcocystis levinei* (Dissanaike ve Kan, 1978) ile son konağı bilinmeyen *Sarcocystis dubeyi* (Huong, 1999) türlerinin, mandaları arakonak olarak kullandıkları bildirilmiştir (Dubey ve ark., 2014). *Sarcocystis cruzi*, *S. hirsuta*, *S. hominis* ve *S. sinensis* türlerinin de mandaları enfekte ettiği anlaşılmıştır (Yang ve ark., 2001; Yang ve ark., 2002; Jehle ve ark., 2009). Mandaları enfekte eden *S. levinei*, *S. dubeyi* ve *S. buffalonis* türlerinin, sığırları enfekte eden *S. cruzi*, *S. hominis* ve *S. hirsuta* ile aynı türler oldukları öne sürülmüştür (Jehle ve ark., 2009).

2. 4. 1. *Sarcocystis* Türlerinin Yaşam Döngüsü

Sarcocystis türleri, kasaplık hayvanlar başta olmak üzere, kanatlı hayvanlar, çeşitli sürüngenler, balıklar ve insanlar dahil 200 canlı türünde, dokularda kist formu gösteren heteroksen protozoonlardır (Ward, 1987; Granstrom, 1988; Ndiritu, 1994; Mehlhorn, 2008; Dubey ve ark., 2015a;). Bu türlerin kistlerine arakonakları olan kasaplık hayvanların kalp, özofagus, diyafram, dil, çene ve diğer iskelet kaslarında rastlanmaktadır (O'Toole ve ark., 1986; Dubey ve ark., 2015a;). *Sarcocystis buffalonis*'in son konakları evcil ve yabani kediler;

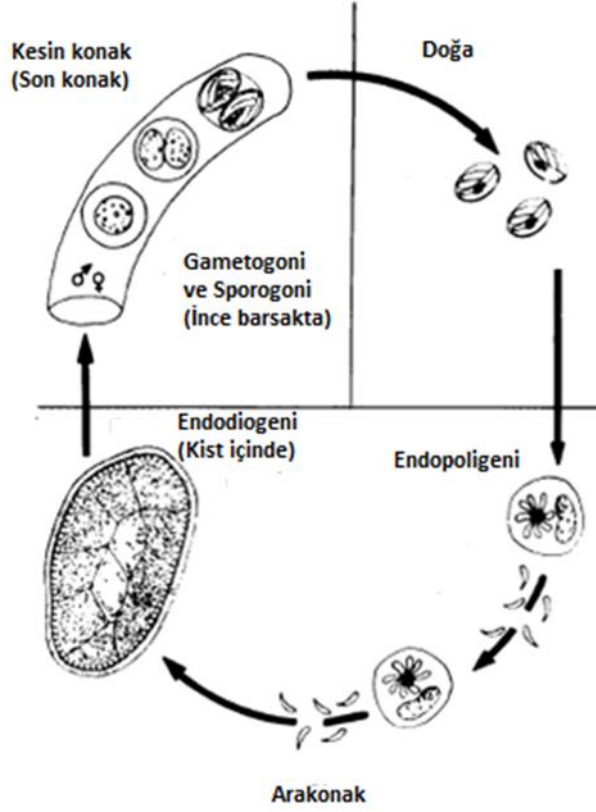
S. cruzi'nin köpekler, kurt, rakun ve kırmızı tilkiler; *S. fusiformis*'in evcil kediler; *S. hominis*'in insan, şempanze, makak ve babun maymunları; *S. levinei*'nin evcil köpeklerdir (Dubey ve Lindsay, 2006). İntraselüler bir protozoon olan *Sarcocystis*'in heteroksen yaşam döngüsünde merogoni (şizogoni), gamagoni ve sporogoni safhaları vardır (Şekil 2) (Dubey ve Lindsay, 2006; Dubey ve Odening, 2008).



Şekil 2. *S. cruzi*'nin yaşam döngüsü (Dubey ve Lindsay, 2006'dan uyarlanmıştır)

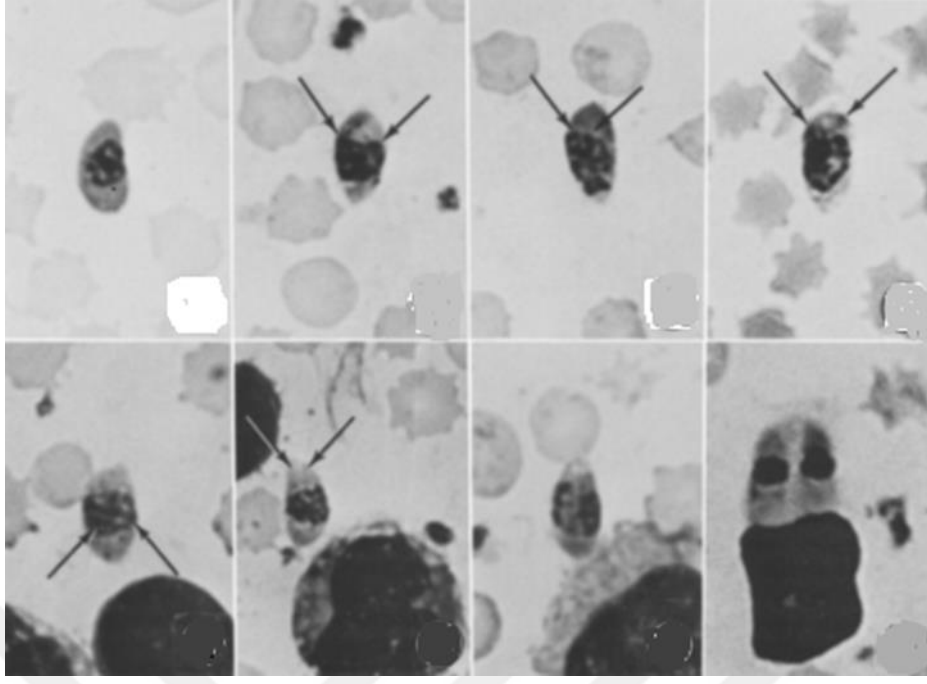
Arakonakta Gelişme

Arakonaklar su ve besinle ağız yoluyla enfekte olurlar. Sindirim enzimlerine maruz kalan sporokistler içinden sporozoitler çıkar ve ince bağırsaklardan vücuda girerler. Birinci merogoni safhası arterlerin endotel hücrelerinde ve özellikle mezenter lenf yumrularında enfeksiyon alındıktan 7 gün sonra meydana gelir (Ndiritu, 1994; Bowman ve ark., 2002; Dubey ve Odening, 2008; Dubey ve ark, 2015). Onbeşinci günde birinci merogoni safhası tamamlanmış olur. İkinci merogoni safhası damar endotellerinde yaklaşık 15 ve 46. günler arasında meydana gelir (Granstrom, 1988; Ndiritu, 1994). Bu ikinci safha daha çok kapıllarların endotel hücreleri içerisinde veya küçük arterlerin endotelleri içerisinde geçer ve endopoligeni ile çoğalır (Şekil 3) (Heckerroth ve Tenter, 2007; Dubey ve Odening, 2008).



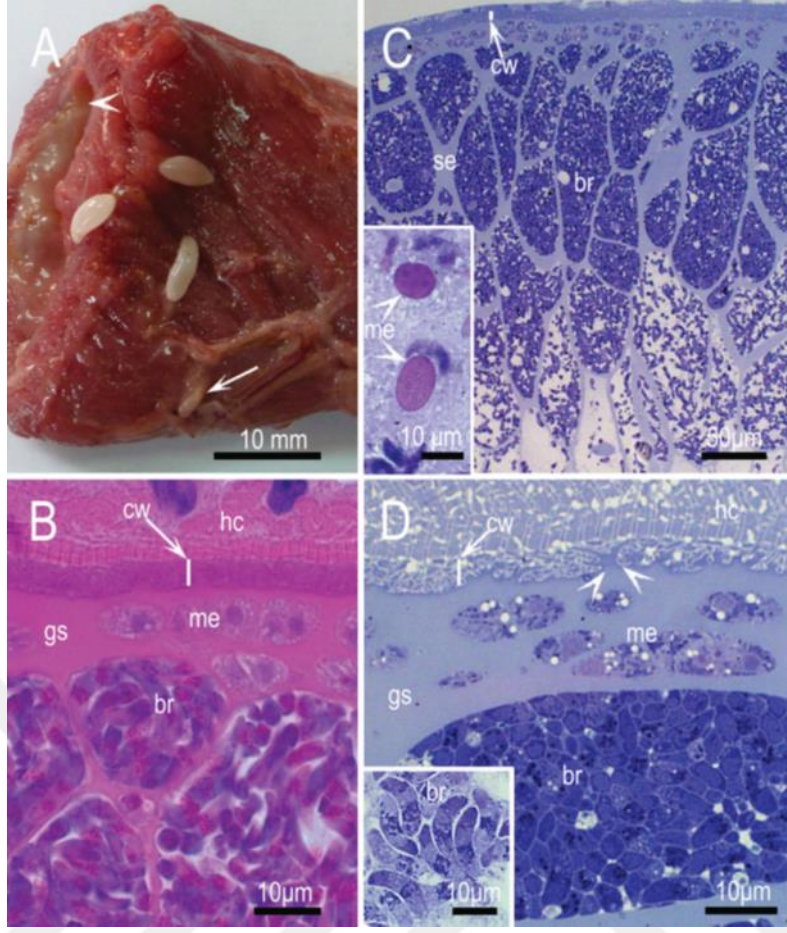
Şekil 3. *Sarcocystis* spp.'nin yaşam döngüsünde endopoligeni (Heckeroth ve Tenter, 2007'dan uyarlanmıştır)

İskelet kaslarındaki merontlar diğer kaslardaki merontlardan daha uzun olurlar. Birinci ve ikinci nesil merontlar parazitofor vakuol içerisinde bulunmazlar. Birinci nesil merontlar bağırsak arteriollerinde, bağırsak lenf yumrularında, akciğer, karaciğer, kalp ve böbrek damar endotelleri içerisinde, ikinci nesil merontlar iç organ ve kapillar damarların endotelleri içinde, hatta bazı türlerde üçüncü nesil merogoni lökositler içerisinde geçer (Fayer, 1979; Dean, 1980; Heckeroth ve Tenter, 2007; Dubey ve Odening, 2008). Merozoitler perifer kanda 24-46. günlerde bulunurlar (Granstrom, 1988; Dean, 1980; Heckeroth ve Tenter, 2007; Dubey ve ark., 2015a). Hatta bu merozoitler perifer kanda ya ekstraselüler ya da mononükleer hücrelerde hücre içinde bulunurlar (Şekil 4) (Granstrom, 1988).



Şekil 4. Kan dolaşımında *S. bovicanis* merozoitleri (Granstrom, 1988'dan alınmıştır)

Mononükleer hücrelerde intrasellüler olarak bulunanlar 1-2 çekirdek ihtiva ederler ve burada endopoligeni ile çoğalırlar. Bütün memelilerde 1. ve 2. merogoni safhaları damar endotellerinde geçer. Kemiricilerde kistleşme öncesi 3. merogoni safhası vardır. Bu safha ise hepatositler içerisinde geçer. Enfeksiyondan yaklaşık 45 gün sonra kaslara gelen merozoitler hücre içerisinde bir parazitofor vakuol içerisine alınır. Burada metrositler bölünmeye uğrarlar ve daha sonra sarcocystlerin içerisi bradizoitlerle dolar ve birkaç binden bir milyona kadar bradizoit (cystozoite) meydana gelir (Şekil 5) (Dubey ve Odening, 2008; Dubey ve ark., 2015b). Bunlar son konaklar (karnivor) için enfektiftir (Dean, 1980; Ward, 1987; Ndiritu, 1994; Heckerth ve Tenter, 2007; Flandrin, 2014).



Şekil 5. *S. fusiformis* sarkokistleri; A) Manda özofagusunda makrokistler, B) Metrosit (me) ve bradizoitler (br), C) Toluidine blue ile boyanan sarkokistlerde septa (se), D) Giemsa ile boyanan bradizoitler (Dubey ve ark., 2015b'dan alınmıştır)

Kesin Konakta Gelişme

Kesin konaklar tarafından karnivorizm ile alınan bradizoitler bağırsaklara ve bağırsaklardaki goblet hücreleri içerisine girerler ve burada makro ve mikro gamonta farklılaşırlar (Gillis, 1993). Bu makro ve mikrogamontlar goblet hücreleri içerisinde bir parazitofor vakuol içerisinde yer alır. Makrogamontlar ovoid ve yuvarlağa yakın 10-20 µm çapında olup tek bir çekirdek taşır. Mikrogamontlar ovoid ve uzunca bir şekilde 1 ile 7 arasında çekirdek içerirler ve çekirdek bölünmesi 15 parçaya ulaştığında bölünme tamamlanır. Çekirdekler mikrogamontun çevresinde yer alır. *S. cruzi*'nin mikrogamontları 5-7 µm çapında 3 ile 11 ince gamet ihtiva eder. Bu mikrogametler 4x0,5 µm büyüklükte 2 flagellaya sahiptir ve çekirdekleri kompakttır. Fertilizasyondan sonra zigot oluşur ve ookist şekillenir. Gametogoni safhasında zigot oluşumuna kadar geçen süre 24 saattir. *Sarcocystis* ookistleri lamina propria sporlanır. Burada ookist içinde sporont ikiye bölünür ve iki sporokist

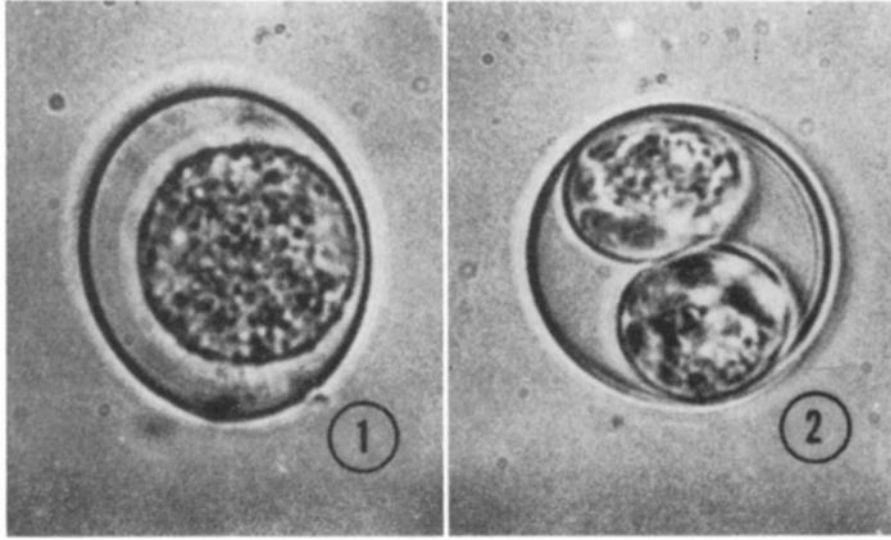
meydana gelir. Her sporokist içinde de 4 sporozoit oluşur. Sporlu ookistlerin çeperleri 1 mikrondan küçük ve renksizdir. İçerisinde 2 uzun sporokist ihtiva ederler. Her birinde 4 sporozoit oluşur ve sporokist kalıntısı meydana gelir. Sporozoitlerin çekirdekleri merkezden terminale doğrudur ve sitoplazma granüllüdür. Sitoplazmada ayrıca kristalloidler vardır. Ookist duvarı çok ince olduğundan ookistler bağırsak lümenine düşerken daima sporokist şeklinde düşerler ve bu şekilde de dışkıya geçerler (Dean, 1980; Dubey ve Odening, 2008). Arada sporlanmamış ookist bağırsak lümenine düşebilir (Şekil 6) (Gill ve ark., 1978; Bowman ve ark., 2002). Prepatent ve patent periyot türlere göre değişmektedir. Kesin konak *Sarcocystis* türlerinin kistleri ile enfekte olduktan sonra 7-14 gün sonra sporokist çıkarır (Heckerth ve Tenter, 2007; Dubey ve ark., 2015a).

2. 4. 2. Morfoloji

Sarcocystis türlerinin kistleri genellikle silindirik ya da iğ şeklindedirler. Bu kistler arakonaklarda makrokist ve mikrokist olarak bulunurlar. *Sarcocystis* türlerinin kist duvarlarının ultrastrüktür yapıları türlere göre farklılık göstermektedir. *Sarcocystis* kas hücrelerine girerken parazitofor vakuol içerisine alınırlar ve bu parazitofor vakuol membran sarkokistin duvarını oluşturur. Primer sarkokist duvarının altında hemen bir granüler tabaka meydana gelir ve bu tabaka odacıkların çevresini oluşturur. Bugüne kadar taksonomide önemi olan 24 tip sarkokist duvarı tespit edilmiştir (Dubey ve Odening, 2008; Dubey ve ark., 2015a). Ookistler kesin konaklarda bağırsak hücreleri içerisinde bulunur ve genellikle sporokist olarak dışkıya ve oradan da doğaya çıkarlar. Sporokistlerin içerisinde sporozoitler vardır, bunlar arakonak bağırsak hücrelerini aktif hareketleri ile geçerler. Arakonak damar endotelleri içerisinde şizontlar ve bu şizontların içinde de mekik şeklinde merozoitler bulunur. Arakonakta 1.ve 2. nesil şizontlar parazitofor vakuol içine alınmazlar ve merozoit içindeki organeller diğer coccidial protozoonlara benzer, fakat roptri bulunmaz (Dubey ve Odening, 2008; Dubey ve ark., 2014).

Ookist (Oocyst)

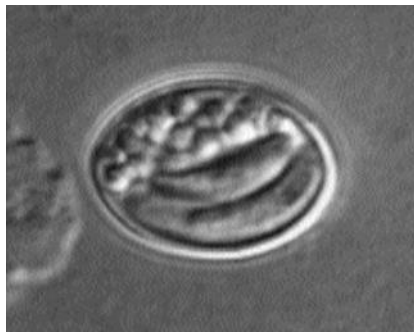
Sarcocystis'in son konakta bulunan ookistleri *Isospora*'ya benzemektedir. *Sarcocystis* türlerinde sporlanmış bir ookistte, 2 sporokist ve her bir sporokist içinde 4'er sporozoit bulunur (Şekil 6,7) (Gill ve ark., 1978; Bowman ve ark., 2002; Cama, 2006).



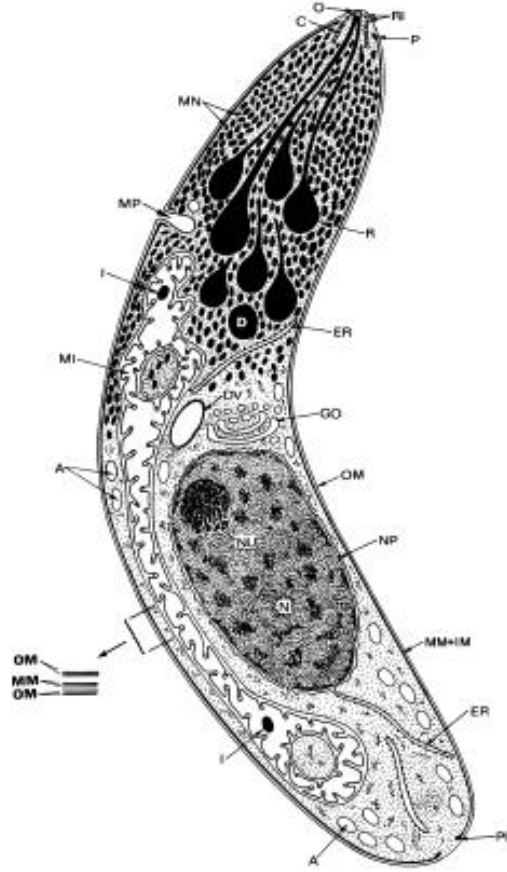
Şekil 6. Manda sarkokistleri ile enfekte köpek dışkılarından alınan ookistler; (1) sporlanmamış, (2) sporlanmış (Gill ve ark., 1978'dan alınmıştır)

Sporokist (Sporocyst)

Sporokistlerin büyüklüğü *S. buffalonis*'te $11.0-14.0 \times 7.0-9.0 \mu\text{m}$, *S. cruzi*'de $14.5-17.0 \times 9.0-11.0 \mu\text{m}$ ve *S. fusiformis*'te $11.5-14.0 \times 9.0-10.0 \mu\text{m}$ dir (Heckerth ve Tenter, 2007). Son konak tarafından dışkı ile atılan sporokistlerin içerisinde 4 sporozoit vardır (Şekil 7) (Bowman ve ark., 2002). Kedilerde *Sarcocystis* spp. sporokistlerinin büyüklüğü $11-14 \times 7-9 \mu\text{m}$ dir (Bowman ve ark., 2002). Sporozoitlerde roptri ve konoid bulunur (Şekil 8) (Mehlhorn 2008; Chhabra ve Samantaray, 2013).



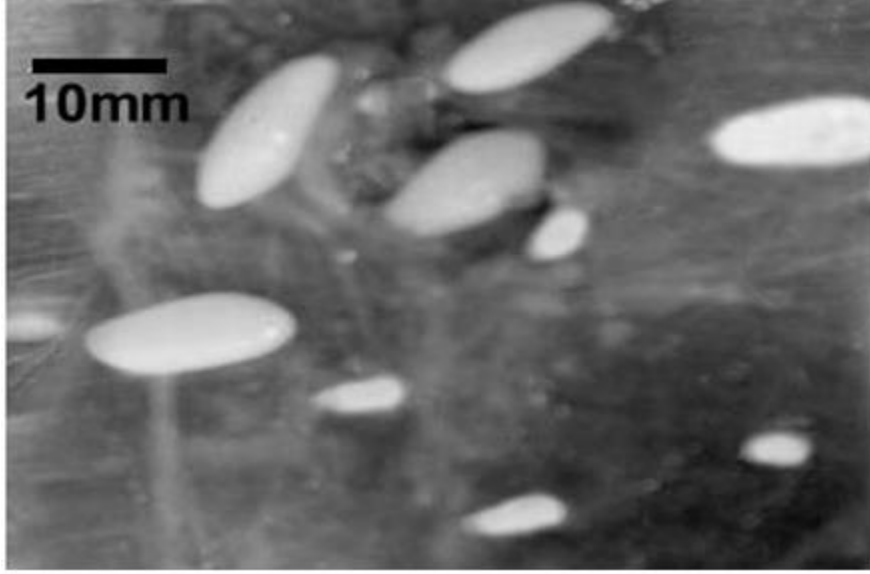
Şekil 7. Son konaktan dışkı ile atılan sporokist (Bowman ve ark., 2002'dan alınmıştır)



Şekil 8. *S. ovifelis* sporozoitinde uzunlamasına kesit; **A:** Amilopektin, **C:** Conoid, **D:** Dens granül, **DV:** Çift katlı vezikül, **ER:** Endoplazmik retikulum, **GO:** Golgi aygıtı, **I:** Dens inclusion, **IM:** İç zar, **MI:** Mitokondri, **MM:** Orta zar, **MN:** Mikronem, **MP:** Mikropor, **N:** Çekirdek, **NP:** Çekirdeğe ait por, **NU:** Çekirdekçik (karyozom), **OM:** Pellikül, **O:** Conoidal açıklık, **P,PP:** Ön ve arka polar ring, **R:** Roptri, **RI:** Ring benzeri conoidal element (Mehlhorn 2008'dan alınmıştır)

Kist (Cyst)

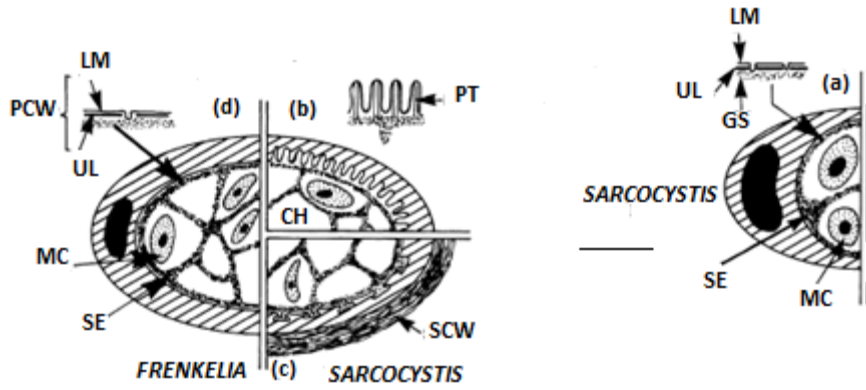
Kistler arakonaklarda, çizgili kaslarda ve kalpte purkinje iplikçiklerinde ve merkezi sinir sistemi içerisinde bulunur. *Sarcocystis cruzi*'nin kistlerinin büyüklüğü ortalama 0.5 mm ve daha küçük, *S. fusiformis*'in ise 3-10 mm, içerisindeki çok sayıdaki bradizoitlerin büyüklükleri *S. hominis*'de 7-9 µm kadardır (Şekil 9) (Heckerth ve Tenter, 2007; Dubey ve ark., 2015a). *Sarcocystis fusiformis*'in kist duvarı karnabahar, *S. cruzi* ve *S. arietecanis*'te saç kılı görünümünde, *S. buffalonis* ve *S. hominis*'de parmak benzeri uzantılar şeklindedir (Şekil 10) (Mehlhorn, 2008; Dubey ve ark., 2015a). Genç kistlerin içinde önce metrositler meydana gelir, daha sonra septa ile ayrılmış bölmelerde bradizoitler gelişir (Şekil 11-12) (Mehlhorn, 2008; El-Seify ve ark., 2014).



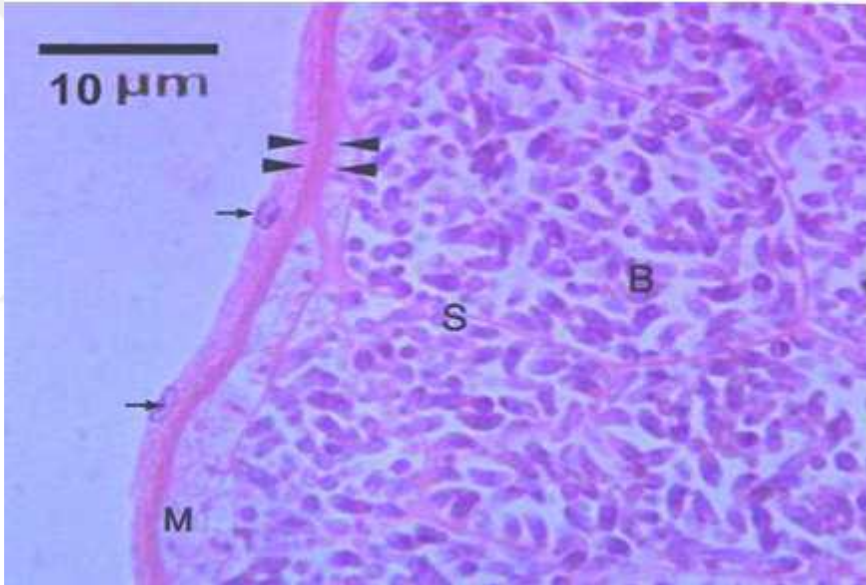
Şekil 9. Manda özefagusundan alınan *S. fusiformis* kistleri (El-Seify ve ark., 2014'dan alınmıştır)



Şekil 10. *Sarcocystis* türleri ve kist duvarı yapıları (Mehlhorn, 2008'dan alınmıştır)



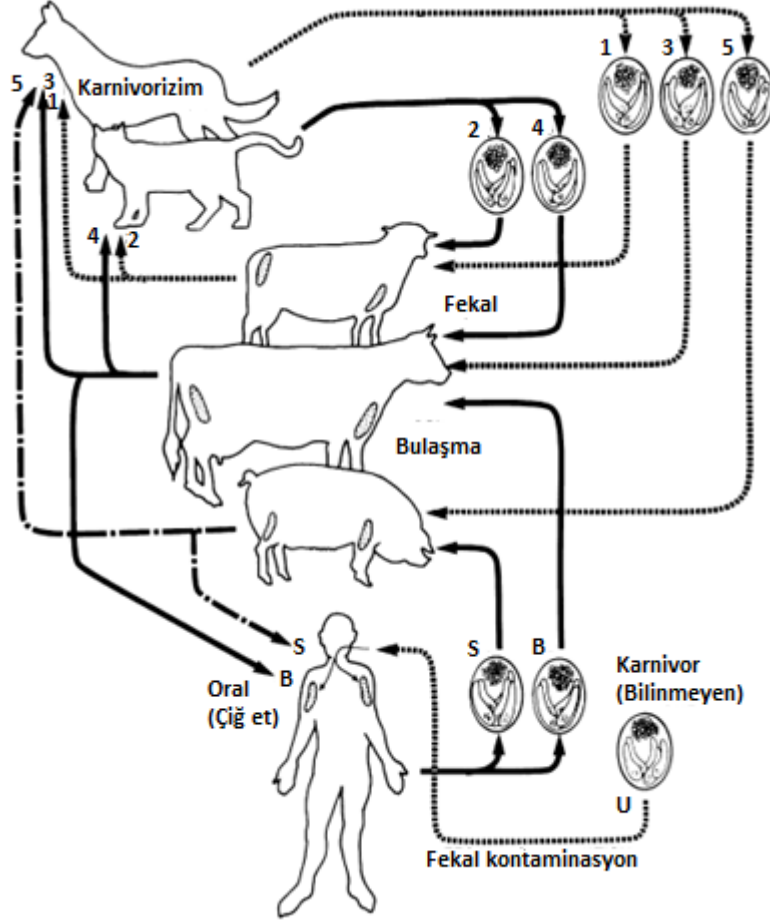
Şekil 11. *Sarcocystis* spp.'de kist yapısı; **a:** Genç kist yapısı, **MC:** Metrosit, **SE:** Septa, **LM:** Sınırlayıcı membran, **UL:** Yoğun alt materyal, **GS:** Dip madde; **b) PT:** Primer kist duvarına uzantı, **CH:** Odacıklar; **c) SCW:** Sekonder kist duvarı; **d) PCW:** Primer kist duvarı (Mehlhorn, 2008'dan alınmıştır)



Şekil 12. *S. fusiformis* kisti; S: Septa, M: Periferdeki metrositler, B: Bradizoitler (El-Seify ve ark., 2014'dan alınmıştır)

2. 5. Epidemiyoloji

İnsanda ve hayvanlarda bulunan *Sarcocystis* türleri dünyada yüksek oranlarda ve kozmopolit bir yayılış göstermektedir (Cawthorn ve Speer, 1990). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda pek çok arakonakta farklı *Sarcocystis* türü bildirilmiş ve arakonaklar pasif olarak son konaklara av olmak, etçil hayvanlar ve insan ise dışkı ile çevreyi kontamine etmek suretiyle enfeksiyonun yayılmasında rol oynamıştır (Şekil 13) (Bowman ve ark., 2002; Mehlhorn, 2008).



Şekil 13. *Sarcocystis* enfeksiyonunda bulaşma; B: *S. bovi hominis* (İnsan kesin konak), S: *S. sui hominis*, U: *Sarcocystis* spp. (İnsan arakonak). *S. ovicanis* (1), *S. ovifelis* (2), *S. bovicanis* (3), *S. bovi felis* (4), *S. suicanis* (5). (Mehlhorn, 2008'dan uyarlanmıştır)

2. 5.1. Arakonaklarda *Sarcocystis* Enfeksiyonunun Prevalansı

Dünyanın değişik coğrafi bölgelerinde birçok çalışma yapılmıştır. Nitekim; Achuthan (1983), Hindistan'da sığırlarda ve mandalarda beyaz renkte, silindirik veya iğ şeklindekikistlerin iskelet kaslarında özellikle özefagus kasında bulunduğunu, boyutlarının ise 0.25 mm - 2.5 cm arasında değiştiğini, mandaların % 10, sığırların ise %1'in enfekte olduğunu ve Bihar bölgesinde ise enfeksiyonun %59 oranında olduğunu bildirmiştir. Huong (1999), histolojik ve mikroskopik olarak Vietnam'da mandalarda *S. levinei*'yi % 74, *S. fusiformis*'i % 41, *S. buffalonis*'i % 33 ve *S. dubeyi*'yi % 12 oranlarında saptadıklarını bildirmiştir. Vietnam'da *Sarcocystis* türlerini ayırt edebilmek için 18s rRNA geninin değişken bölgesi PZR-RFLP ile çoğaltılmış ve *Sarcocystis* spp. sığırlarda % 63, mandalarda % 90 oranında tespit edilmiştir (Jehle ve ark., 2009). *Sarcocystis* enfeksiyonu mandalarda ülkelere göre değişmekle birlikte, bazı ülkelerde genellikle yaygın ve birbirine yakın yayılış oranları

ile seyretmektedir. Bu ülkelerden Mısır'da (El-Dakhly ve ark., 2011) %74.5-82.3, Vietnam'da (Huong, 1999) %79, Malezya'da %66.7 (Latif ve ark., 2013) ve Filipinler'de (Claveria ve Cruz, 2000) %65 oranlarında *Sarcocystis* enfeksiyonu bildirilmiştir. Dünyada değişik ülkelerde genellikle *S. fusiformis* baskın tür olurken, Mısır'da mandalarda *S. cruzi* tespit edilmiştir (Latif ve ark., 2013; Metwally ve ark., 2014). Morfolojik olarak ayırımın zor olduğu *Sarcocystis* türlerinden, *S. bovifelis*'in sığırlarda *S. hirsuta* ile farklılığı belirgin olmakla birlikte, *S. sinensis*'in *S. rommeli* ile morfolojik olarak benzer oldukları bildirilmiş ve *S. bovifelis* benzeri *S. sinensis*'in mandalarda ayrı bir tür olduğu ortaya konmuştur (Chen ve ark., 2011; Zuo ve Yang, 2015; Gjerde, 2016). Kemiricilerde de monoklonal antikorlar kullanılarak *S. cruzi*'nin sporozoit, merozoit ve bradizoit antijenleri belirlenmiştir (Burgess ve ark., 1988). ELISA ve IHA ile Mısır'da mandalarda yapılan sensitivite ve spesifiteleri yüksek serolojik bir çalışmada *Sarcocystis* enfeksiyonunda sırayla % 67.6 ve % 63.6 oranlarında seropozitiflik tespit edildiği bildirilmiştir (Ashmawy ve ark., 2014). Geyiklerde ve yaban domuzlarında da Litvanya'da sırasıyla % 83 ve % 92.7 oranında *Sarcocystis* enfeksiyonu tespit edilmiştir (Malakauskas ve Grikenienė, 2002). İran'da yapılan moleküler, histolojik ve mikroskopik çalışmalarda mandalarda kalın duvarlı makroskopik kistler *S. fusiformis*, *S. buffalonis*, mikroskopik kistler de *S. levinei* ve *S. dubeyi* olarak teşhis edilmiştir (Oryan ve ark., 2010; Oryan ve ark., 2011). *S. hominis* ve bazı *Sarcocystis* türlerinin insanlarda kaslarda ve gastrointestinal sistemde, iyi pişmemiş hamburgerlerde tespiti ve Macaristan'da da sığırlarda saptanan *S. sinensis*'in zoonotik özelliği olabileceği nedeni ile her iki tür de halk sağlığını yakından ilgilendirmektedir (Dubey ve Lindsay, 2006; Chen ve ark., 2011; Makhija, 2012; von Sonnenburg ve ark., 2012; Hajimohammadi ve ark., 2014b; Hornok ve ark., 2015).

Mimioğlu ve ark. (1969), *Sarcocystis* enfeksiyonunun Türkiye'de manda, sığır ve koyunlarda tespit edildiğini bildirmiştir. İzmir yöresinde keçilerde *Sarcocystis* enfeksiyonlarından sorumlu türlerin *S. capracanis*, *S. hircicanis* ve *S. moulei* olduğu bildirilmiştir (Beyazıt ve ark., 2007; Aydın ve Göz, 2013), Aydın ve Göz (2013) Hakkari'de keçilerde *S. capracanis* ve *S. tenella* tespit ettiklerini, Özkayhan ve ark. (2007), Kırıkkale'de koyunlarda *S. ovicanis* ve az olarak da *S. arieticanis*'e rastladıklarını, Gökpınar ve ark. (2014), aynı yörede akkaraman koyunlarında *S. tenella*'yı %91, *S. arieticanis*'i %18.7 oranlarında tespit ettiklerini, Sevinç ve ark. (2000) ise Konya yöresinde koyunlarda *S. ovicanis*, *S. ovifelis* ve *S. arieticanis* olmak üzere üç tür saptadıklarını bildirmişlerdir. *Sarcocystis* enfeksiyonu sığırlarda; Şubat ayında yüksek (% 95,6), Kasım ayında düşük (%87.6), mandalarda; Nisan, Mayıs, Ağustos, Eylül, Kasım ve Mart aylarında yüksek (%100),

Ekim ayında ise düşük (% 86.9) oranlarda rastlandığı bildirilmiştir (Özer, 1988). Çetindağ ve Doğanay (1996), Samsun yöresinde mandalarda %13 oranında makroskobik sarkokist bulunduğunu bildirmişlerdir. Elazığ'da mandaların diyaframlarında hangi türler olduğu belirtilmemiş olan çalışmada Özer (1988), iki farklı mikroskobik türün bulunduğu, dişilerde en yüksek enfeksiyon %61.5 oranında kaydedilirken, Ekim ayında en düşük (% 86.9) oran saptandığını bildirmiştir. Makroskobik kistlerle enfeksiyon oranı erkeklerde daha düşük (% 29.2) bulunmuştur (Özer, 1988). Mikroskobik kistlerle enfekte erkek ve dişi mandalarda enfeksiyon oranı bakımından önemli bir farkın bulunmadığı belirtilmiştir (Dündar ve Özer, 1996). Mandalarda varlığı bildirilen, ancak tür tayini yapılmamış makroskobik kistler (Tüzdil, 1936) *S. fusiformis*, *Sarcocystis* spp. olarak bildirilmiş, kıl benzeri uzantılara sahip kistler (Özer, 1988) ise *S. levinei* olarak isimlendirilmiştir. Yapılan araştırmalar (Tüzdil, 1936; Özer, 1988; Dündar ve Özer, 1996), Türkiye'de mandalarda makroskobik *S. fusiformis* ile mikroskobik *S. levinei* ve *Sarcocystis* spp.'nin varlığı ortaya konmuştur. Türkiye'de mandalarda *Sarcocystis* enfeksiyon oranları Tablo 1 ve Tablo 2 de gösterilmiştir.

Tablo 1. Türkiye'de mandalarda makroskobik sarkokistlerin dağılımı

ARAKONAK	İL/BÖLGE	M.E.H.S.	E.H.S.	%	ARAŞTIRICILAR
Manda	Ankara	125	49	39,2	(Dündar ve Özer, 1996)
	Ankara	-	-	78,0	(Tüzdil, 1936)
	Ankara	74	62	83,8	(Retzlaff N ve Weise, 1969)
	Elazığ	183	48	26,2	(Özer, 1988)

M.E.H.S.: Muayene edilen hayvan sayısı, E.H.S.: Enfekte hayvan sayısı

Tablo 2. Türkiye'de mandalarda mikroskobik sarkokistlerin dağılımı

ARAKONAK	İL/BÖLGE	M.E.H.S.	E.H.S.	%	ARAŞTIRICILAR
Manda	Ankara	125	102	81,6	(Dündar ve Özer, 1996)
	Ankara	66	46	70,2	(Retzlaff ve Weise, 1969)
	Elazığ	183	174	95,1	(Özer, 1988)

M.E.H.S.: Muayene edilen hayvan sayısı, E.H.S.: Enfekte hayvan sayısı

2. 5. 2. Son Konaklarda *Sarcocystis* Türlerinin Prevalansı

Avustralya'da köpeklerde yapılan gastro intestinal bir çalışmada barınaklarda % 14, petshop'larda % 7, veteriner kliniklerine gelen köpeklerde % 2.6, köpek yetiştiren işletmelerde % 2 ve çalışma bölgesindeki diğer köpeklerde % 1.1 oranında *Sarcocystis* spp. sporokisti tespit edilmiştir (Bugg ve ark., 1999). Arjantin'de *Sarcocystis* spp. sporokisti, 0-6 ay arası köpeklerde % 11.2, 7-11 aylıklarda % 11.8, 1-6 yaş aralığında % 8.2 ve 6 yaşlı köpeklerde % 6.4 oranında saptanmıştır (Fontanarrosa ve ark., 2006). Diğer çalışmalarda Çek Cumhuriyeti'nde (Dubna ve ark., 2007) % 0.6, Brezilya'da (Oliveira-Sequeira ve ark., 2002) % 2.2, Almanya'da (Barutzki ve Schaper, 2003) % 9 oranında köpeklerde *Sarcocystis* sporokisti kaydedilmiştir. Kedilerde, Almanya'da (Barutzki ve Schaper, 2003) % 2.2, Romanya'da (Mircean ve ark., 2010) % 1, Yeni Zelanda'da (Langham ve Charleston, 1990) % 4.8 ve diğer yabancı kedigillerde ise, Tayland'da (Patton ve Rabinowitz, 1994) leoparlarda % 11, kaplanlarda % 7 oranlarında *Sarcocystis* spp. sporokistine rastlanmıştır.

Türkiye'de de yapılan çalışmalarda köpek ve kedilerde *Sarcocystis* spp. sporokistleri tespit edilmiştir (Dumanlı, 1984; Burgu ve ark., 1985; Güçlü ve Aydenizöz, 1995; Umur ve Arslan, 1998). Ankara'da *Sarcocystis* sporokistleri ile enfekte kedilerin ikisinin genç, altısının yaşlı ve üçünün erkek, beşinin dişi olduğu bildirilmiştir (Burgu ve ark., 1985). Makroskobik ve mikroskobik sarkokistli keçi özefaguslarının yedirildiği sekiz köpeğin *S.capracanis*, iki kedinin *Sarcocystis* spp. (Özer, 1984), mikroskobik kistli manda özefaguslarının yedirildiği altı köpeğin ise *S. levinei* (Dündar ve Özer, 1996) sporokistleri çıkardıkları bildirilmiştir.

2. 6. *Sarcocystis* Klinik Semptomlar

Son konak hayvanlar ile arakonak hayvanlarda *Sarcocystis* enfeksiyonuna özel spesifik semptom görülmemekle birlikte, ciddi klinik belirtiler arakonaklarda meydana gelir (Bowman ve ark., 2002; Heckerroth ve Tenter, 2007). *Sarcocystis neurona* tektırnaklılarda ensefalomiyelitle seyrederek ve genellikle ölümlü sonuçlanır (Barbosa ve ark., 2015; Dubey ve Lindsay, 2006; Lindsay ve ark., 2000)

2. 6. 1. Arakonaklarda Klinik Semptomlar

Sarcocystis türlerinin birçoğunda ruminantlar arakonak durumundadır. *Sarcocystis* türlerine ait doğal enfeksiyonlar, klinik belirtiler tam olarak bilinmemekle beraber enfeksiyonun başlangıcında akut, ilerleyen dönemlerde kronik enfeksiyonlar şeklindedir.

Klinik belirtiler alınan sporokist miktarına ve arakonağın duyarlılığına göre de değişmektedir. Enfeksiyona sebep olan türlerin damar endotellerindeki şizogoni döneminde çok belirgin semptomlar gözlenir (Heckerroth ve Tenter, 2007; Dubey ve Greene, 2012).

Akut Enfeksiyon

Sarcocystis enfeksiyonunda en patojen türler sığır, koyun ve keçilerde görülür. Genellikle *S. cruzi* enfeksiyonunda akut sarcocystosis meydana gelir. Bu dönemde süt veriminde düşme, iştahsızlık, ishal, kaslarda tremor, uyuşukluk, sarılık, anemi, hemorajik diyatez, ensefalitis veya ensefalomyelitis şekillenebilir ve hayvan ölebilir (Dubey ve ark., 1988; Gillis, 1993; Heckerroth ve Tenter, 2007; Flandrin, 2014). Yine bu dönemde abort, ölü ve prematüre doğum meydana gelir. Abort olayları genellikle gebeliğin ortasından sonuna doğru şekillenir. Plasentitisi takiben abort görülür. Akut *Sarcocystis* enfeksiyonunda 16-21. günlerde ve 28-32. günlerde tekrar ortaya çıkan kısa süreli beden ısısı artışı (40-42°C), anoreksiya, dispne, aşırı salivasyon ve hatta bazan ölüm meydana gelmektedir (Dean, 1980).

Kronik Enfeksiyon

Arakonaklarda anemi, serumda bilirubin artışı, üre ve enzimlerde artış, mandibular ödem, topallık, burun akıntısı gözlenir. Bunların yanında anoreksi, takatsizlik, yangı, süt veriminde düşüş, ishal, perifer lenf yumrularında şişme, ağızdan salya artışı, kaslarda seyirme, solunum güçlüğü, opistotonus, sarılık, uyuşukluk gibi semptomlar ile kronik fazda eozinofilik miyozitis, aşırı zayıflama, mukoz membranlarda sarılık, ekzoftalmi ve kaslarda atrofi, kıl dökülmesi meydana gelir (Gillis, 1993; Ndiritu, 1994; Dubey ve ark, 2015a).

2. 6. 2. Son Konaklarda Klinik Semptomlar

Yüz türden fazla memeli, kanatlı, poikilotermik ve keseli hayvanda görülen *Sarcocystis* enfeksiyonu genellikle kesin konaklar için patojenik değildir (Dubey ve Lindsay, 2006).

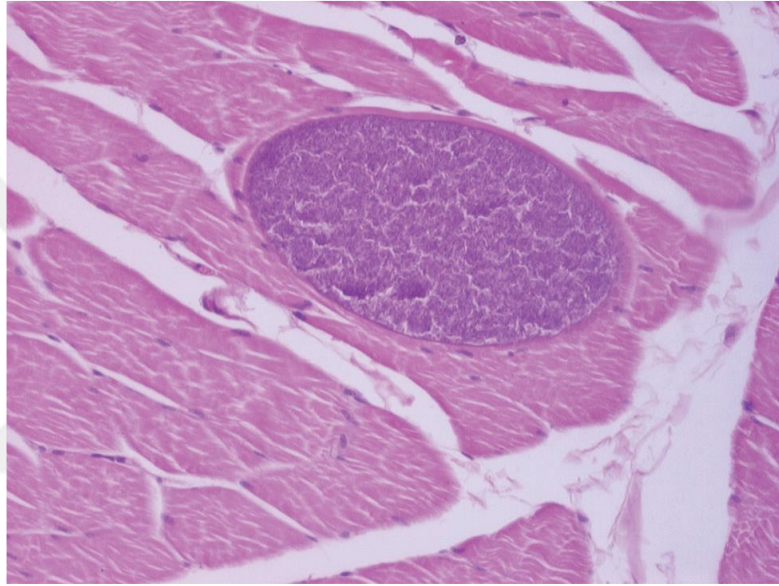
Kedi ve Köpek

İntestinal gelişme gösteren *Sarcocystis* türleri son konaklar kedi ve köpeklerde patojenik olmadığı için klinik semptom göstermezler ve türlerin sporokistlerinin ölçüleri de farklı olmadığından mikroskopik tür ayrımı yapılamaz (Bowman ve ark; 2002). Yalnız immun supresif kedi ve köpeklerde bazan iskelet kaslarında ve kalp kasında sarkokist formlar bulunabilir. *Sarcocystis canis* (*Sarcocystis*-like) beyinde fonksiyon bozukluğu ve karaciğerde

nekroza neden olmaktadır ve bu protozoon aynı zamanda deniz memelilerinde de bulunmaktadır (Dubey ve Greene, 2012).

İnsan

İnsanlarda sindirim sisteminde sarcocystosis kronik formda bulunur ve semptomlar belirgin ve spesifik değildir (Nichols, 1999). Akut gastroenteritis meydana gelir, karın ağrısı ve mide bulantısı, kusma, ishal gibi klinik belirtiler görülebilir (Dubey ve Lindsay, 2006). Bazı türleri insanlarda muskuler sarcocystosise sebep olabilir ve kaslarda miyalji, eklem ağrıları ile seyrederek (Şekil 14) (Fayer, 2004; Makhija, 2012; von Sonnenburg ve ark., 2012).



Şekil 14. İnsanda iskelet kasında sarkokist (Makhija, 2012'dan alınmıştır)

2. 7. Sarcocystosiste Patogenez

Sarcocystis türlerinin son konaklardaki enfeksiyonunda klinik belirti oluşmaz. Arakonaklarda ise son konağı köpekçiller olan *Sarcocystis* türleri, son konağı kedigil olanlara nazaran daha patojendir (Dubey ve Greene, 2012). Klinik belirtiler *Sarcocystis* türüne, alınan sporokist miktarına ve arakonağın duyarlılığına göre de değişir. Enfeksiyonun başlangıcında sığırlarda yüksek ateş, salivasyonda artış, anoreksiya, dehidrasyon ve kaslarda tremor vardır (Dean, 1980; Chhabra ve Samantaray, 2013). Özellikle gebe ineklerde akut sarcocystosis görülür ve etkisi daha önemlidir. Korioallantoik zarlarda aşırı sıvı birikimli ödemli şişlikler görülür. Fötüsün rengi koyu kırmızı ve ödemlidir. Fötüse ait bütün dokular otolize olur ve abort şekillenir. *Sarcocystis* enfeksiyonunda transplasental geçiş minimal olmakla birlikte, *Corpus luteum* enfekte olur ve hormonal değişiklikler gözlenir. Progesteron hormonu plazma

konsantrasyonu düşer ve luteoliz oluşur. Placentomlarda küçülme vardır ve fetal kotiledonlarda nekroz vardır. Sığırlarda 6 aylıktan daha yukarı gebeliklerde *Sarcocystis* enfeksiyonuna bağlı abort vakalarında düşüş gözlenir (Dean, 1980; Heckerth ve Tenter, 2007). Myositis, *Sarcocystis* enfeksiyonunda daha çok duyarlı bireylerde görülür (Flandrin, 2014). Domuzlarda *Sarcocystis* enfeksiyonunda hematolojik olarak nötrofili, lökopeni, monositoz, PCV (toplam hücre hacmi) ve TEC (toplam eritrosit sayısı) düşüklüğü enfeksiyonun 7-35 günlerinde meydana gelir (Dey ve ark., 1995; Chhabra ve Samantaray, 2013).

2. 8. İmmunite

Sarcocystis enfeksiyonu geçiren hayvanlarda homolog türlerin reenfeksiyonunda daima akut enfeksiyonlara karşı bir immunité gelişir. Ratlarda yapılan bir çalışmada akut sarcocystosiste Th1 immün yanıt meydana geldiği ve protozoona spesifik IgG2b, IgG2c antikorların, kronik safhada ise IgG1 antikorlarının yükseldiği kaydedilmiştir (Jaekel ve ark, 2001). Intraselüler gelişen birçok protozoonda olduğu gibi, koksidal protozoonlara hücrel immunité önemli olmak üzere hem hücrel, hem de humoral etkili bir immün yanıt meydana gelirken, köpeklerde bağırsaklardaki gametogoni safhasında hücrel immünite etkili olmamakta, bradizoitlere karşı da humoral immün yanıt şekillenmemektedir (Caruso, 1980; Uggla ve Buxton, 1990). *Sarcocystis* enfeksiyonunda *Sarcocystis* türüne karşı spesifik IgM antikorlarında, IgG'ye göre 9 kat artış gözlenmektedir (Fayer ve Lunde, 1977). *Sarcocystis* enfeksiyonunda şizogoni safhasında damar endotellerinde antijen sunan hücreler aktifleşmekte, ayrıca enfekte bireylerde protozoon vücuttan elimine edilememekte ve reenfeksiyonda akut ve ölümcül enfeksiyon oluşmamakla birlikte kazanılmış bağışıklık söz konusu olmamaktadır (O'Donghue ve Wilkinson, 1988; Uggla ve Buxton, 1990).

2. 9. Sarcocystosisin Ekonomik Önemi

Sarcocystis enfeksiyonunda kistli etlerin yenmemesinin yanında, ruminantlarda *Sarcocystis* enfeksiyonlarının belirtilerinin açık olmaması ve enfeksiyonların etkilerine dair çalışmaların yetersiz olması nedeni ile ekonomik kayıp tam olarak hesaplanamamaktadır (Gillis, 1993; Şaki ve ark., 2010). Süt verimindeki azalma, sporadik abort olayları ve mezbahada kistli etlerin tüketime sunulmaması önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Tüzdil, 1936; Çıtak, 2010;). Amerika'da *Sarcocystis* enfeksiyonuna bağlı kayıpların yaklaşık yüz milyon dolar civarında olduğu bildirilmiştir (Fayer ve Dubey, 1986; Gillis, 1993; Ndiritu, 1994).

2. 10. Tanı

Sarcosporodiosis son konaklarda genellikle asemptomatik seyreder. Kedi ve köpeklerde bazen ishal görülebilir. İnsanlarda karın ağrısı, mide bulantısı, ishal, solunum güçlüğü ve karın ağrısı gözlenebilir. *Sarcocystis* enfeksiyonlarında arakonaklarda semptomlar tipik olmadığından enfeksiyonun varlığına karar vermek çok zordur. Teşhis için biyopsi dahil birçok metottan faydalanılmaktadır (Ward, 1987; Konrad ve ark., 2013; Latif ve ark., 2013; Hajimohammadi ve ark., 2014c).

2. 10. 1. Klinik Tanı

Arakonaklarda *Sarcocystis* enfeksiyonlarının akut ve kronik formları klinik gözlemlere dayanılarak konması güç olmakla birlikte, hücre hasarı durumunda laktat dehidrojenaz seviyelerinde artış görülebilir ve son konaklarda klinik belirti olmadığından dışkıda *Sarcocystis* sporokistlerinin teşhis edilmesi çok zordur (Ford ve ark., 1987).

2. 10. 2. Arakonaklarda Mikroskopik Tanı

Mezbahalarda dokularda makrokistlerin görülmesi ile çıplak gözle konabilir, fakat mikrokistler görülmez (Dubey ve ark; 2015a).

Işık Mikroskobu ile Tanı

Işık mikroskobu ve trişinoskop ile makrokistler, tripsin ile işleme tabi tutularak mikrokistler teşhis edilebilmektedir. Kandan yapılan ve giemsa ile boyanan ince frotilerde monositler içinde *Sarcocystis* merozoitlerinin görülmesi halinde de teşhis konulabilir (Dubey ve ark., 2015a).

Elektron Mikroskobu ile Tanı

Kistlerden hazırlanan çok ince kesitlerde kist duvarının morfolojik farklılığına göre teşhis konulur ve kistlerin parazitofor vakuol içerisinde mikrotubul içeren Cytophanerleri belirgindir (Levine, 1985; Dubey ve Odening, 2008). Ancak yine de bazı türlerde morfolojik benzerlikler saptanmıştır. Bradizoitler konak hücresi içerisinde parazitofor vakuol içerisinde (Dubey ve ark., 1988; Chen ve ark., 2011).

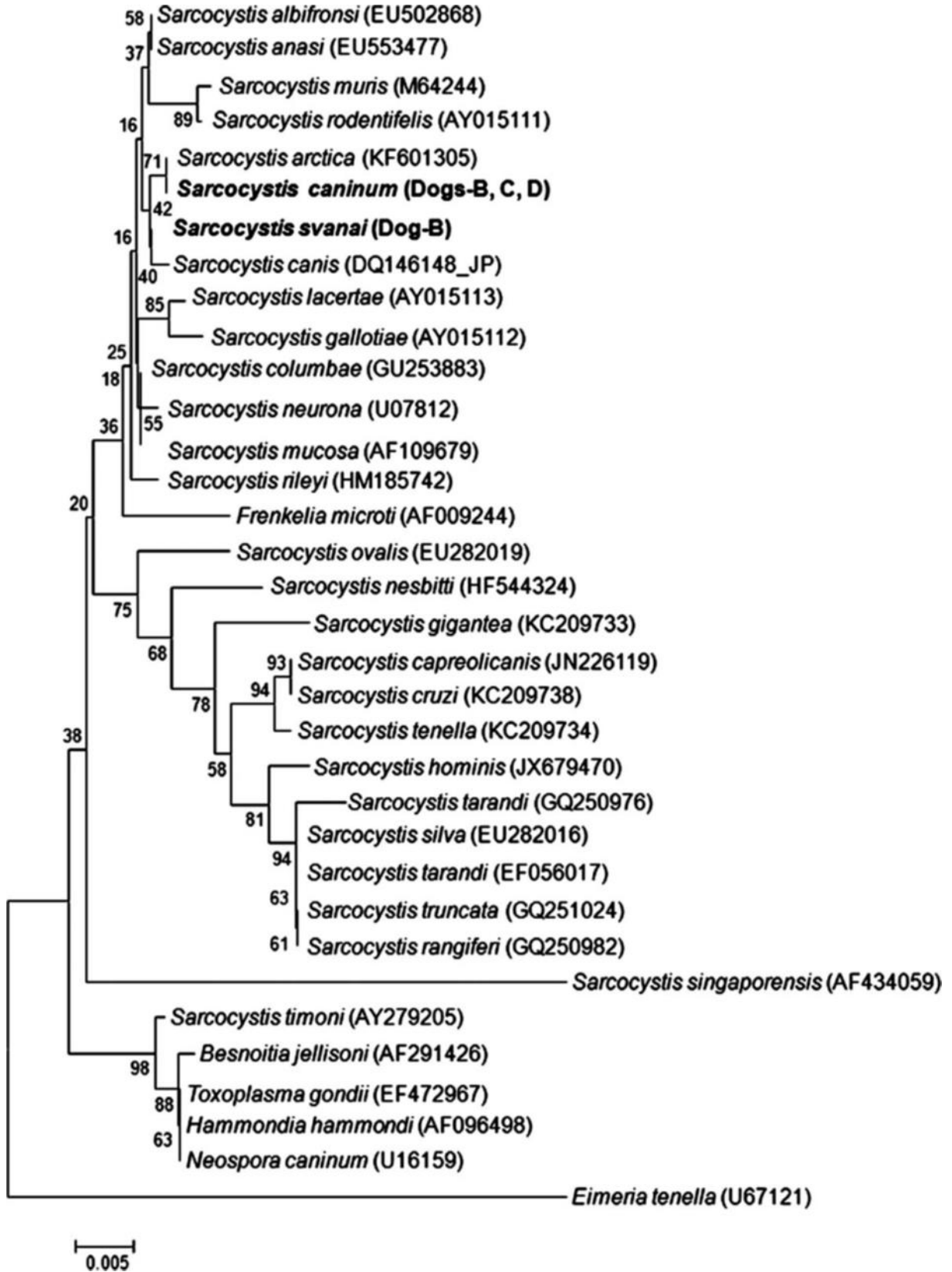
2. 10. 3. Serolojik Tanı

Teşhiste en pratik olan serolojik yöntemlerdir. Sarcocystosisin teşhisinde IFA (İndirekt Floresan Antikor), Western blot, IHA (İndirekt Hemaglutinasyon), Agar Jel İmmüno Difüzyon, ELISA (Enzim Linked Immunosorbent Assay) gibi testlerden

faýdalanılmaktadır (Burgess ve ark., 1988; Uggla ve Buxton, 1990; Dubey ve ark., 1999; Heckerth ve Tenter, 1999). Serolojik testler uygulanmakla birlikte, türler arası ve diğerkoksidial protozoonlar arasında çapraz reaksiyonlar oluşmaktadır. *Sarcocystis* enfeksiyonunda IgM seviyesi kanda birkaç ay sürer ve IgG 3 ay sonra en yüksek seviyeye çıkar (Dubey ve ark., 2015a).

2. 10. 4. Moleküler Tanı

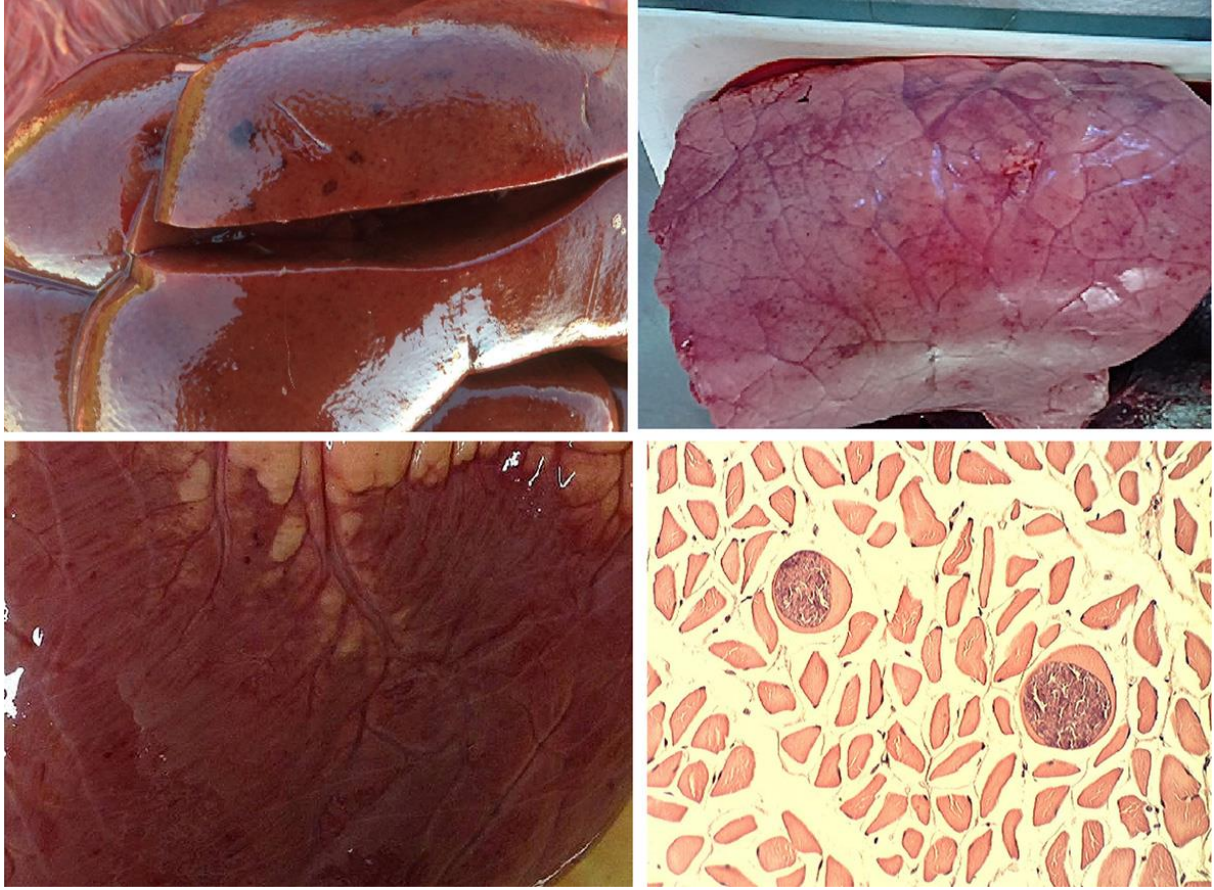
Moleküler olarak ve sekans analizi ile farklı türler teşhis edilebilir. *Sarcocystis* türlerinin teşhisinde bugüne kadar değişik PZR teknikleri uygulanmıştır. Bunlar; Multiplex PZR, PZR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) (Jehle ve ark., 2009; Moreve ark., 2013), PZR-RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA), filogenetik sekans analizi (Şekil 15) gibi moleküler yöntemlerdir (Yang ve ark., 2002; Güçlü ve ark., 2004; Kutkiene ve ark., 2012; Gjerde, 2013; Flandrin, 2014; Barbosa ve ark., 2015; Dubey ve ark., 2015c; Akhlaghi ve ark., 2016).



Şekil 15. Filogenetik 18S rRNA sekans analizine göre *Sarcocystis* türleri (Dubey ve ark., 2015c' dan alınmıştır)

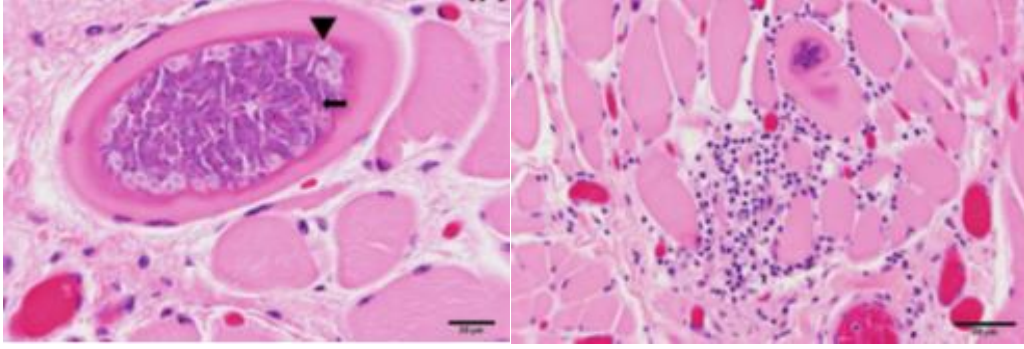
2. 10. 5. Histolojik ve Patolojik Tanı

Sarcocystis enfeksiyonunda nekropside lenfadenopati, seröz zarlarda peteşiyel kanamalar, kalp, böbrek, akciğer ve kaslarda dejenerasyon ve hemorajiye rastlanabilir (Şekil 16) (Hornok ve ark., 2015).



Şekil 16. Sarcocystosiste (*S. cruzi* enfeksiyonu) post mortem lezyonlar; A: Böbrek, B: Akciğer, C: Kalp, D: Özefagus kistleri (Hornok ve ark., 2015'dan alınmıştır)

Yangısal, ödemli lezyonlar omurilikte görülür. Histopatolojik incelemelerde kan damarlarının endotel hücrelerinde şizontlar görülebilir. Kaslarda myositis şekillenebilir (Vangeel ve ark., 2013). Bu histopatolojik değişiklikler hematoxylin-eosin, modifiye Gomori trichrome ve periodicacid Schiff gibi boyama yöntemleri ile görüntülenebilir (Şekil 17) (Aleman ve ark., 2016).



Şekil 17. Metrositler ve kaslarda myositis; A. Sarcocyst içinde metrosit ve bradizoit; B. Myositis (Aleman ve ark., 2016'dan alınmıştır)

2. 11. Sarcocystosisin Tedavi ve Kontrolü

Hastalıktan korunmada kesin konaklar ile arakonakların temasının kesilmesi gerekir. İnsanlar hijyenik sebze ve meyve tüketmelidir. Arakonak hayvanların organ ve dokuları kedi ve köpeklere çiğ veya az pişmiş olarak yedirilmemelidir (Dubey ve ark., 2015a). Derin dondurucularda dondurulan veya 60-80 °C'de 8-15 dakika pişirilen kistli organlardaki bradizoitler canlılıklarını kaybederler. Duyarlı canlıları *Sarcocystis* enfeksiyonundan korumak için tüm risk faktörlerini iyi yönetmek kontrol etmek (Heckerroth ve Tenter, 2007).

2. 11. 1. Arakonaklarda Tedavi ve Koruma

Sarcosporodiosisin tedavisinde ilaç kullanımı oldukça sınırlıdır. Çiftlik hayvanlarında enfeksiyon belirgin olmadığı için ilaç kullanımı uygun değildir. Hayvanların otladığı meralarda başıboş evcil ve yabani karnivorların dışkısı temizlenmelidir. İnsanların da son konak olması nedeni ile kanalizasyonlarda drenaj teknik usüllere göre yapılmalıdır (Heckerroth ve Tenter, 2007; Dubey ve ark., 2015a). Bazı değerli hayvan ırklarına koruyucu olarak ilaç verilebilir. Yeme 0.5 mg/kg dozunda diclazuril katıldığında *S. neurona* seropozitif taylarda, tedavi edilmeyen gruba göre serokon versiyonun istatistiksel olarak düştüğü gözlenmiştir (Dubey ve ark., 1999).

2. 11. 2. Sonkonaklarda Enfeksiyon Kontrolü

Sarcocystis enfeksiyonlarının önlenmesinde kedi ve köpeklere çiğ et yedirilmemesi oldukça önemlidir. Yaban hayatında ölen hayvanlar derin çukurlara gömülmelidir. Mezbahaların drenajı çevreyi kontamine etmeyecek şekilde yapılmalıdır. Çiğ köfte gibi çiğ et yeme alışkanlığının riski insanlara anlatılmalıdır (Heckerroth ve Tenter, 2007; Dubey ve ark., 2015a). Mezbahalarda hayvan kesimleri Veteriner Hekim denetiminde yapılmalıdır. Enfekte

ookist ve sporokistlerin atılması ve yayılmasında önemli rolleri olan kedi ve köpeklerin koruyucu tedavileri önemlidir (Bowman ve ark., 2002; Dubey ve ark, 2015a). Bu amaçla amprolium 100 mg/kg dozunda kullanılabilir. Deneysel çalışmalarda bulaşmadan hemen sonra verilen halofuginonun şiddetli enfeksiyonları önlediği tespit edilmiştir.



3. MATERYAL VE METOT

Samsun ilinde 2007 yılı rakamlarına göre yaklaşık 8951 manda bulunmakta ve Türkiye'deki toplam manda varlığının yaklaşık % 10'nu oluşturmakta ve bu sayının 5064'ü Yakakent, Alaçam, Bafra ve Ondokuzmayıs ilçesinde yaşamaktadır (Atasever ve Erdem, 2008; Yılmaz ve ark., 2012; Hekimoğlu, 2017).

3. 1. MATERYAL

Bu araştırmada mandalarda sarcocystosise neden olan türlerin tespiti için rastgele (random) örnekleme ile kesimi yapılan 27 tanesi iki yaşlı, 78 tanesi iki yaş üzeri olmak üzere toplam 105 mandadan numuneler alınmıştır. Örnek alınan hayvanların 54 tanesi erkek ve 51 tanesi dişi mandadır. Alınan numuneler özofagus, dil, kalp ve interkostal kaslardan olmak üzere en az 420 doku örneği içinde distile su, % 70'lik alkol ve % 10 neutral buffer formalin bulunan solüsyon içerisine alındı (Gjerde, 2013).

3. 2. METOT

3. 2. 1. Kistli dokuların parçalanması ve mikroskopik muayenesi

Kistlerin incelenmesi için Coons solüsyonu ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 1.78 g, K_2HPO_4 0,136 g, NaCl 8,77 g, 1 litre distile su, pH 7,2-7,4) ve tripsin solüsyonu (1.3 g pepsin, 3.5 ml HCl, 2.5 g NaCl ve 500 ml distile su) kullanıldı (Özkayhan ve ark., 2007; Dubey ve ark., 2015b). Mikrokistlerin ortaya çıkarılması için küçük parçalara ayrılmış özofagus, dil, kalp ve interkostal kaslardan 10 g, içinde 50 cc tripsin solüsyonu (1.3 g pepsin, 3.5 ml HCl, 2.5g NaCl ve 500 ml distile su) içerisine alınarak eritme-parçalama metodu (Dubey ve ark., 2015b) ile oda ısısında bir gece bekletildi ve mikserde çevrildikten sonra 63 µmlik bir süzgeçten geçirilerek süzüntü bir tüp içine alındı. Bu süzüntü 2500 devirde 10 dakika çöktürüldü, bunu takiben bir pipet yardımıyla dipteki tortudan bir miktar lam üzerine alındı, lamel kapatıldıktan sonra 10'luk, 40'luk objektifler aracılığıyla *Sarcocystis* varlığı mikroskopta arandı (Huong ve ark., 1997; Claveria ve Cruz, 2000; El-Dakhly ve ark., 2011; Latif ve ark., 2013; Dubey ve ark., 2015a).

3. 2. 2. Kistlerin mikroskopik ve histolojik muayenesi

Takibi yapılan özefagus, dil, kalp ve interkostal kaslardan ve makrokistli örneklerden herbiri %10'luk nötral formalin içinde 48 saat süre ile tespit edildi. Kesilen dokular su altında formalinden arındırıldı ve iki kez 96 derecelik, bir kez absöüt alkolde ikişer saat tutularak dehidre edildi. Ksilol ile iki kez ikişer saat işlem gördükten sonra yine ikişer saat sırasıyla

ksilol + parafin ve saf parafinde tutularak parafin emdirme işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra bloklama işlemi yapıldı. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler Haematoxylin - Eosin (HE) boya ile daha sonra da Periodic Acid Schiff (PAS) yöntemleriyle boyanarak mikroskopta fotoğrafları çekildi (Makhija, 2012; El-Seify ve ark., 2014; Hornok ve ark., 2015; Aleman ve ark., 2016; Dubey ve ark., 2016a). *Sarcocystis* türlerinin kas duvar yapıları morfolojik farklılığına göre ilgili literatürler ışığında değerlendirildi (Cawthorn ve Speer, 1990; Dubey ve Odening, 2008; Mehlhorn, 2008; El-Seify ve ark., 2014; Dubey ve ark., 2015a; Dubey ve ark., 2015b). Kistlerin içindeki bradizoitler iki lam arasında ezildikten sonra, lamalar metil alkolde 5 dk. tespit edilerek 45 dk. Giemsa ile boyandı ve bradizoitlerin mikroskopta ölçümleri yapıldı.

3. 2. 3. DNA ekstraksiyonu

Eritme ve parçalama yöntemi uygulanan doku örnekleri, 30 µl distile su içerisinde 1.5 ml lik mikrosantrifüj tüplerine alındı ve üreticinin doku protokolü uygulanarak ticari DNA ekstraksiyon kiti (Thermo Genejet genomic DNA purification kit) ile DNA ekstraksiyonları yapıldı (Yang ve ark., 2001; Li ve ark., 2002; Yang ve ark., 2002) ve DNA örnekleri -20°C de saklandı.

3. 2. 4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR ile protozoonun makroskopik ve mikroskopik kistlerinden 18S rRNA yüzey geni nukleotit sekansı ilgili literatürlere göre (Li ve ark., 2002; Yang ve ark., 2002; Jehle ve ark., 2009) çoğaltıldı.

Bunun için; (forward) 18S9L (5'-GGA TAA CCT GGT AAT TCT ATG-3') ve (reverse) 18S1H (5'-GGC AAA TGC TTT CGC AGT AG-3') primerleri kullanıldı. PZR karışımı toplamda 50 µl olmak üzere 10 mm Tris HCl, 50 mm KCl, 3,5 mm MgCl₂, 250 µm dNTP miks, her bir primerden 50 pmol ve 2U taq polimeraz olacak şekilde hazırlandı (Oryan ve ark., 2011).

Tablo 3. PZR amplifikasyon protokolü

Sikluslar	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama
Ön denatürasyon	95 °C, 5 dk	-	-
35 siklus	94 °C, 30 sn	60°C, 30 sn	72 °C, 30 sn
Son uzama	-	-	72 °C, 10 dk
En son	4°C		

3. 2. 5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu – Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (PZR-RFLP)

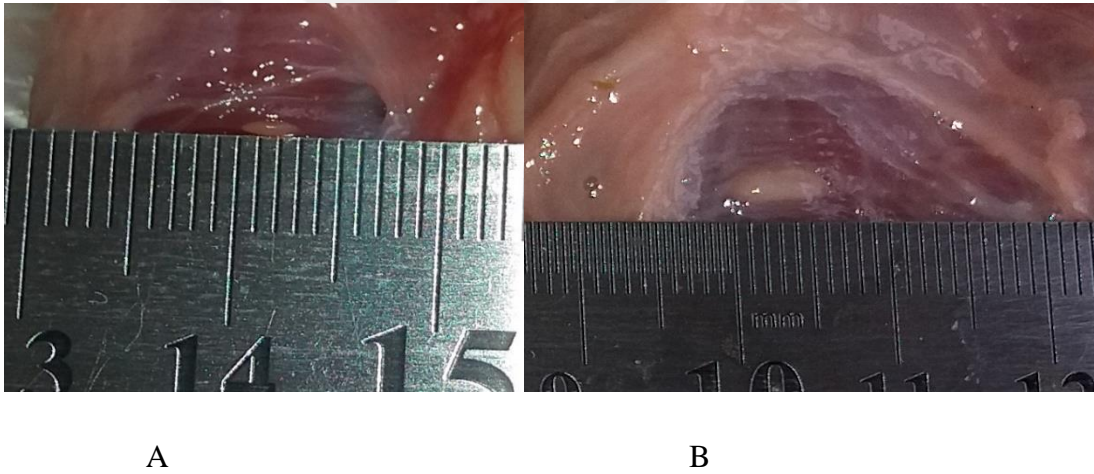
Amplifiye edilen 18S rRNA gen ürünleri Dra1, Ssp1, Fok1 ve Bsl1 endonükleaz enzimleri ile kesilerek farklı *Sarcocystis* türleri belirlendi (Li ve ark., 2002). Toplam 50 µl reaksiyon karışımının içine 10-20 µl PCR ürünü, 10 ünite restriksiyon enzimi ve 5 µl buffer eklendi. Restriksiyon karışımı Dra1, Ssp1 enzimleri için 37 °C, Fok1, Bsl1 enzimleri için 55 °C’de 16 saat inkube edildi. Bu süre sonunda Dra1 ve Ssp1 enzimlerinin 65 °C, Fok1 ve Bsl1 enzimlerinin ise 80 °C’de 20 dakikada inaktivasyonu sağlandı. Elde edilen ürünler % 1.5 agaroz jelde, 100V, bir saat olacak şekilde yürütülerek sürenin sonunda jel dijital görüntüleme sisteminde (MiniBIS, DNR bio imaging system) fotoğraflandı.

3. 2. 6. İstatistiksel Değerlendirme

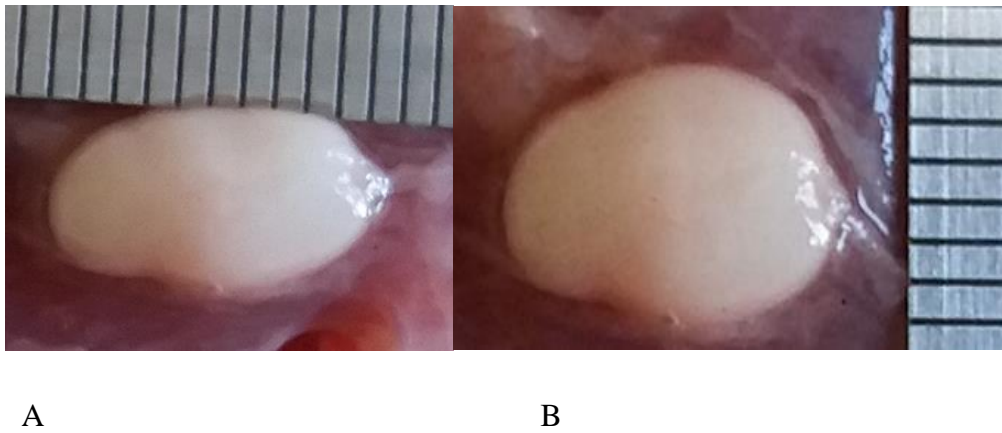
Farklı *Sarcocystis* türlerinin yöredeki varlığı ile ilgili istatistiksel analizler için Package for Social Sciences (SPSS 20.0, IBM) software programı ile Ki-kare testi kullanıldı.

4. BULGULAR

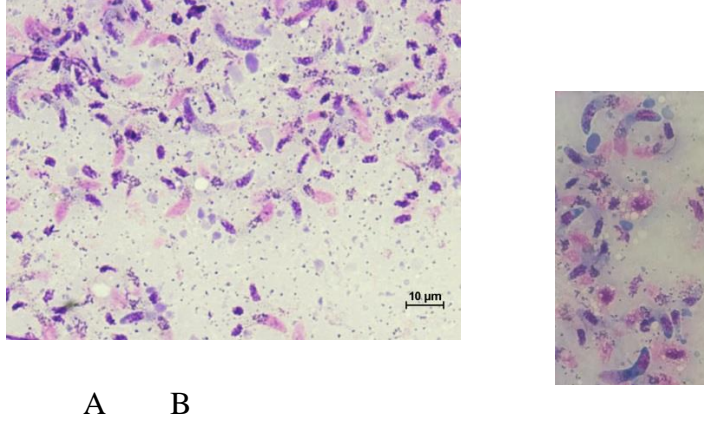
Bu çalışmada özefagus ve dilde saptanan makroskopik *Sarcocystis* spp. kistleri iğ görünümünde ortalama 3–11 mm uzunlukta, 1-6 mm genişlikte, beyaz renkte, özellikle özefagus dokusundan rahatlıkla çıkarılabilir şekilde yer aldıkları gözlenmiştir (Şekil 18, 19). Histolojik kesitlerde makroskopik ve mikroskopik kistlerin ince bir kist duvarına sahip oldukları gözlendi (Şekil 20, 21). Kesimi yapılan mandalardan alınan farklı organ örneklerinin histolojik kesitlerinde (özefagus, dil, intercostal kaslar ve kalp) *Sarcocystis* spp. mikroskopik kistlerine rastlanmıştır (Şekil. 22, 23, 24, 25). Muayene edilen 105 mandaya ait özofagus, kalp, dil ve intercostal kaslardan oluşan 420 materyalden özellikle özefagusta, daha az olarak dilde %18 oranında *Sarcocystis* spp. makrokistleri tespit edilmiştir. *Sarcocystis fusiformis*'e uyumlu makroskopik kistlerin içindeki bradizoitler ortalama 15.4 X 3.3 µm. olarak ölçülmüştür (Şekil 20). Ayrıca makroskopik kistlerle enfekte mandaların aynı zamanda ve mikroskopik kistlerle de miks enfeksiyonlar oluşturdukları gözlenmiştir.



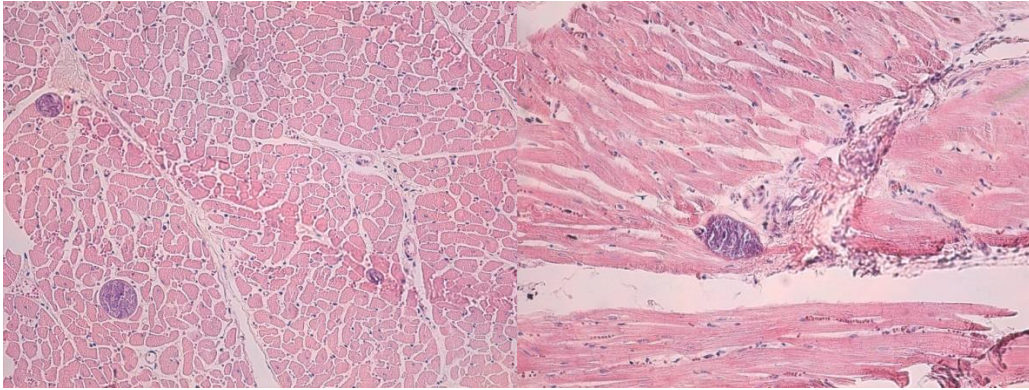
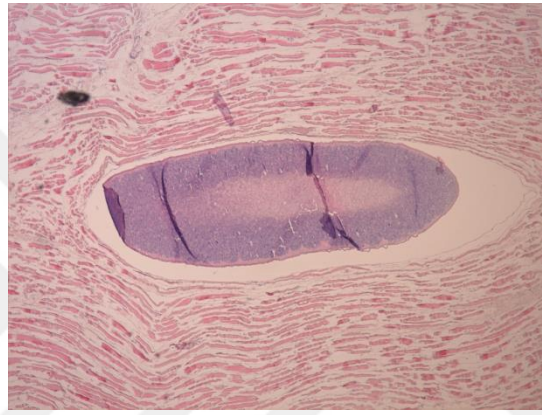
Şekil 18. Özefagusta farklı büyüklükte *Sarcocystis* spp. makrokistleri. (Uzunluk; A: 3 mm., B: 8 mm., Orijinal)



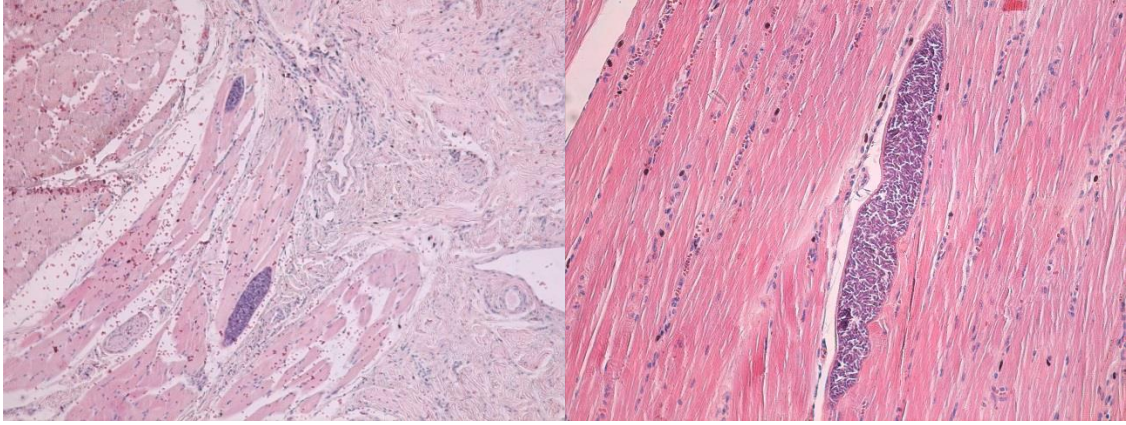
Şekil 19. Özofagusta *S. fusiformis* makrokistinin ölçüleri. (A: Uzunluk, 11mm; B: Genişlik 6 mm., Orijinal)



Şekil 20. Giemsa ile boyanmış *S. Fusiformis* bradizoitleri; A; [15.4 X 3,3 µm.], B; (Orijinal)



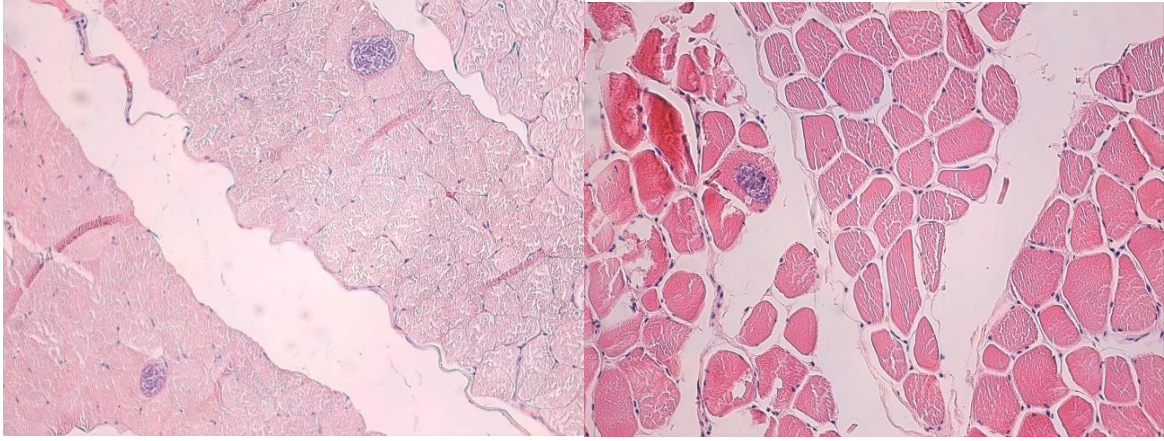
Şekil 22. Kalpte *Sarcocystis* spp. mikrokistleri (A: 10x, B: 20x, Orijinal)



A

B

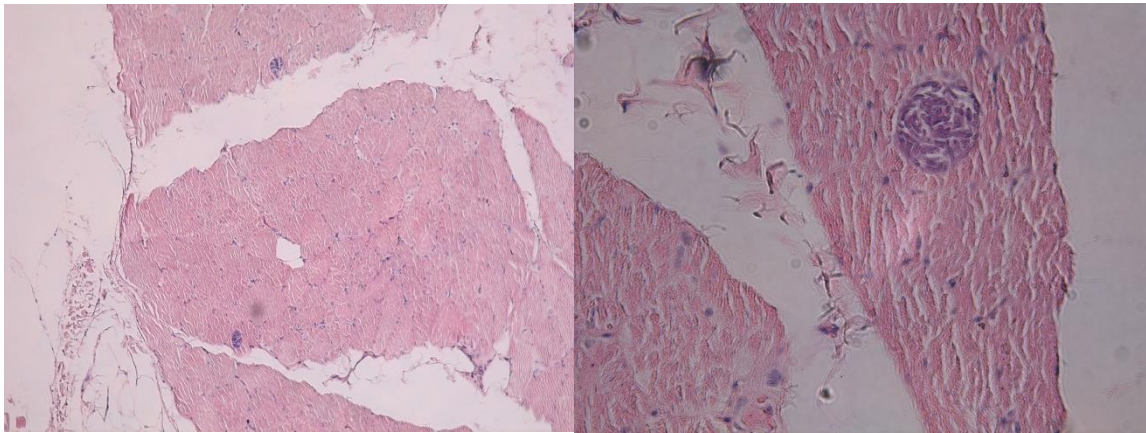
Şekil 23. Dilde *Sarcocystis* spp. mikrokistleri (A: 10x, B: 20x, Orijinal).



A

B

Şekil 24. İnterkostal çizgili kaslarda *Sarcocystis* spp. mikrokistleri (A,B: 10x, Orijinal)

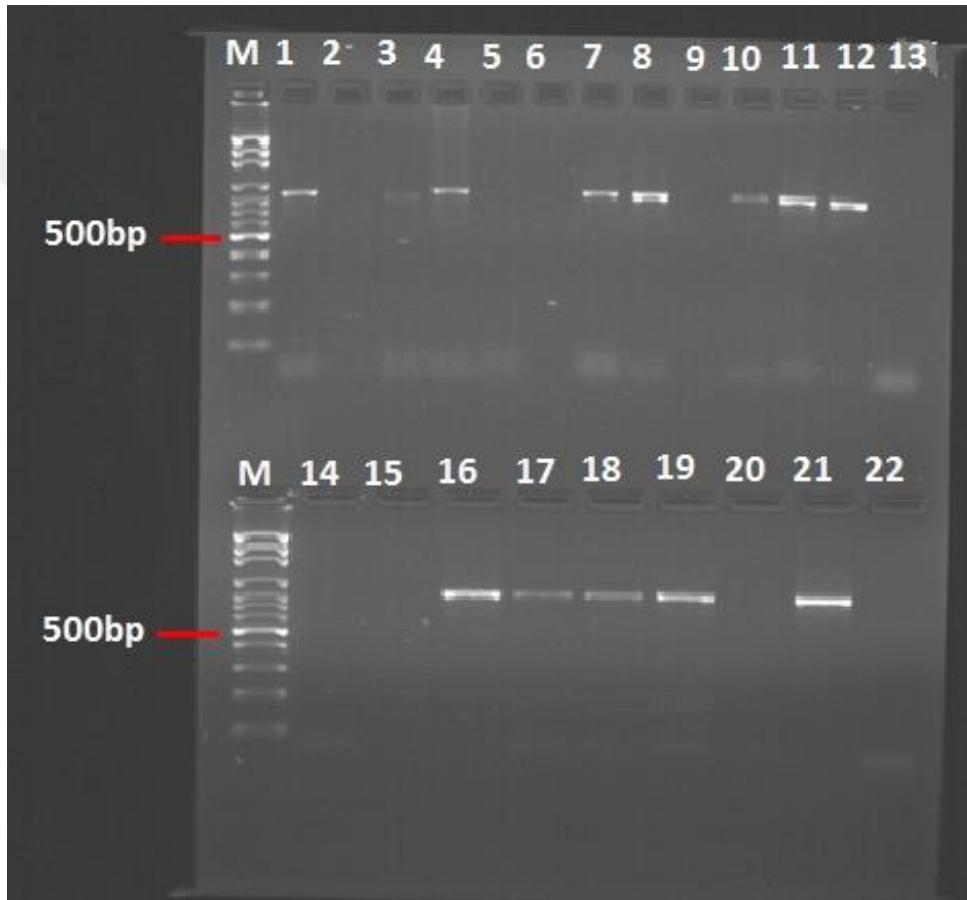


A

B

Şekil 25. Özefagusta *Sarcocystis* spp. mikrokistleri (A: 10x, B: 40x, Orijinal)

Çalışmada mandalardan dil, özefagus, kalp ve interkostal kaslardan alınan doku örneklerinde eritme, parçalama işleminden sonra DNA ekstraksiyonu uygulanarak PZR işlemine tabi tutulmuş ve pozitif örneklerin jel elektroforezde yaklaşık 900 bp'de *Sarcocystis* DNA'sı görüntülenmiştir (Şekil. 26). Araştırmada mandalarda, PZR ile % 70.47 oranında *Sarcocystis* enfeksiyonu tespit edilmiştir. İki yaşlı hayvanlarda % 33.3 oranında pozitiflik saptanırken, iki yaş üzeri hayvanlarda % 80.7 oranında pozitiflik tespit edilmiştir. Alınan doku örneklerinde organlara göre *Sarcocystis* enfeksiyonunun dağılımı sırası ile özofagusta % 83.7, kalpte % 77 ve inter-costal kaslarda % 66.2 olarak bulunmuştur.



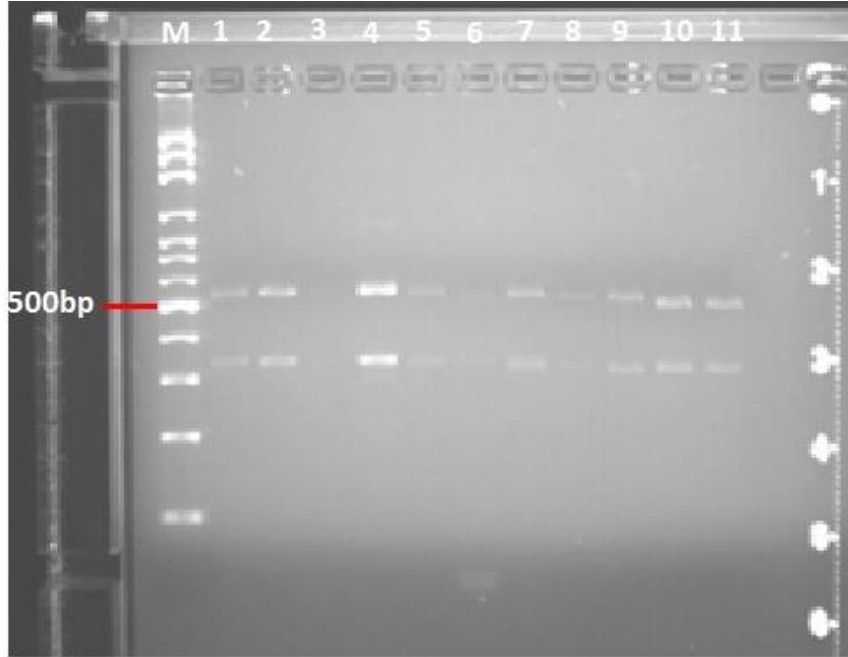
Şekil 26. Mandalarda doku örneklerine uygulanan PZR işlemi sonucu *Sarcocystis* spp. jel elektroforez görüntüleri; M: Marker (100 bp); 2,5,6,9,14,15,20: Negatif örnekler; 13,22: Negatif Kontrol; 1,3,4,7,8,10-12,16-19,21: Pozitif Örnekler

PZR-RFLP ile *S. fusiformis* amplikonu endonukleaz enzimlerinden Dra 1 ile kesim işlemine tabi tutulduğunda 750-850 bp arası iki bant ve 100 bp'de bir bant gözlenmiştir. Aynı enzim ile *S. cruzi* amplikonu kesildiğinde 400-500 bp arası iki bant gözlenmiştir (Şekil 27).



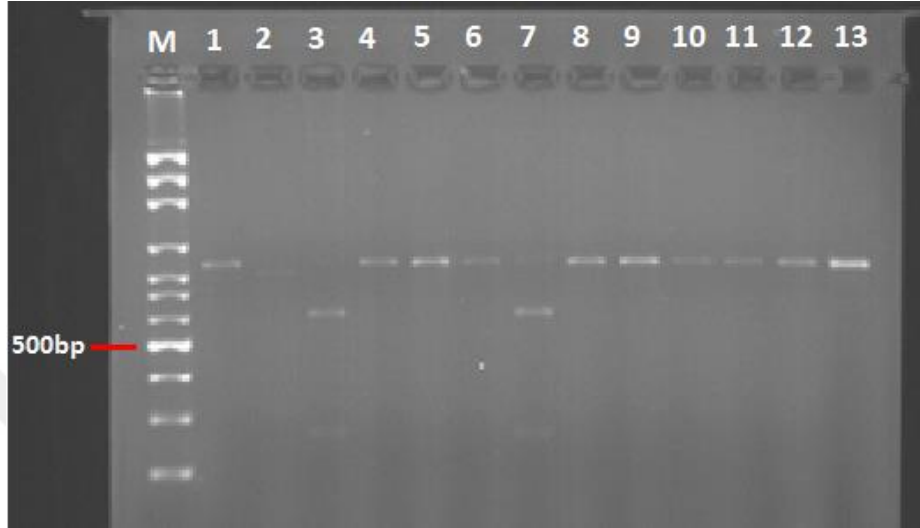
Şekil 27. Samsun yöresi mandalarında *Sarcocystis* izolatlarının DraI endonükleaz enzimi ile kesilmesi işlemi sonucunda jel elektroforez görüntüleri; M: Marker (100 bp), 1-5,7-9: *S. fusiformis*, 6, 10-11: *S. cruzi*

PZR-RFLP ile *S. fusiformis* ampliconu endonükleaz enzimlerinden BslI ile kesim işlemine tabi tutulduğunda 500-600 bp arası bir bant ve 300-400 bp arası bir bant gözlenmiştir. Aynı enzim ile *S. cruzi* ampliconu kesildiğinde bant profilinin birbirine çok yakın olduğu gözlemlendi (Şekil 28).



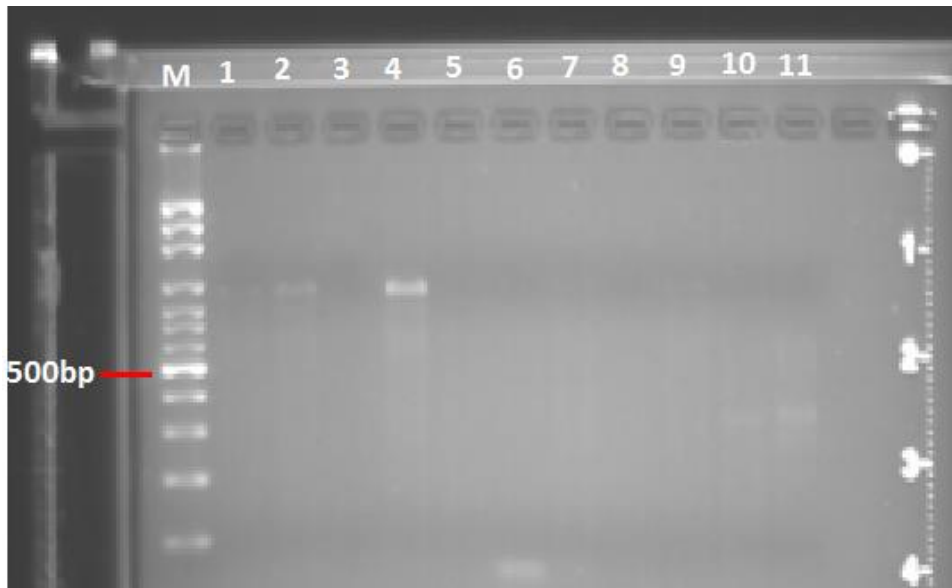
Şekil 28. Samsun yöresi mandalarında *Sarcocystis* izolatlarının BslI endonükleaz enzimi ile kesilmesi işlemi sonucunda jel elektroforez görüntüleri; M: Marker (100 bp), 1-9: *S. fusiformis*, 10-11: *S. cruzi*

PZR-RFLP ile *S. fusiformis* amplikonu endonükleaz enzimlerinden Ssp1 ile kesim işlemine tabi tutulduğunda 600-700 bp arası bir bant ve 200-300 bp arası bir bant gözlenmiştir. Aynı enzim ile *S. cruzi* amplikonunda kesim işlemi olmamıştır. Yaklaşık 900 bp'de bir bant gözlenmiştir (Şekil 29).



Şekil 29. Samsun yöresi mandalarında *Sarcocystis* izolatlarının Ssp1 endonükleaz enzimi ile kesilmesi işlemi sonucunda jel elektroforez görüntüleri; M: Marker (100 bp), 3,7: *S. fusiformis*; 1,4-6,8-11,12,13: *S. cruzi*; 2: *Sarcocystis* spp.

PZR-RFLP ile *S. fusiformis* amplikonu endonükleaz enzimlerinden Fok1 ile kesilmemiş ve yaklaşık 900 bp'de bir bant gözlenmiştir. Aynı enzim ile *S. cruzi* amplikonu kesildiğinde 400-500 bp arası bir bant ve 300-400 bp arası bir bant gözlenmiştir (Şekil 30).



Şekil 30. Samsun yöresi mandalarında *Sarcocystis* izolatlarının Fok1 endonükleaz enzimi ile kesilmesi işlemi sonucunda jel elektroforez görüntüleri; M: Marker (100 bp), 1,2,4,9: *S. fusiformis*, 10,11: *S. cruzi*

Makroskopik ve mikroskopik bakı ile beraber protozoonun değişen 18S rRNA gen bölgesinin, PZR-RFLP ile incelenmesinde Samsun yöresinde mandalarda *Sarcocystis* enfeksiyonuna neden olan türler, *S. cruzi*, *S. fusiformis* ve *Sarcocystis* spp. olarak belirlenmiştir. Mandalarda sırayla *S. cruzi* % 50, *S. fusiformis* % 45.8 ve *Sarcocystis* spp. % 4.2 oranında saptanmıştır. Çalışma sonucuna göre Samsun yöresinde saptanan mikrokist oluşturan türlerden *S. cruzi* dominant tür olurken, bunu çok az farkla makrokistik türlerden *S. fusiformis* izlemiş ve saptanan türlerin izolatları MF 327255 ve MF 327256 numaralarıyla GenBank'a kaydedilmiştir. Daha az olarak da *Sarcocystis* spp. tespit edilmiştir. Bu çalışmada mandalarda *S. cruzi*, *S. fusiformis* ve *Sarcocystis* spp. enfeksiyonları sırayla % 50, % 45.8 ve % 4.2 olmak üzere yaygın bulunurken, *S. cruzi* ve *S. fusiformis* enfeksiyonları arasında istatistiksel fark görülmemiştir ($P>0.05$). Diğer taraftan kalp, özefagus ve interkostal kaslar arasındaki mikrokistlerin dağılım oranlarında istatistiksel fark gözlenmemiştir ($P>0.05$). Bununla birlikte erkek ve dişiler arasında enfeksiyon dağılım oranında farklılık kaydedilmezken, gençlerle yaşlılar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$).

5. TARTIŞMA

Mandalarda *Sarcocystis* enfeksiyonu bazı ülkelerde genellikle yaygın ve ülkelere göre değişmekle birlikte birbirine yakın yayılış oranları ile seyretmektedir. Bu ülkelerden Mısır'da (El-Dakhly ve ark., 2011) % 74.5-82.3, Vietnam'da (Huong, 1999) % 79, Malezya'da (Latif ve ark., 2013) % 66.7 ve Filipinler'de (Claveria ve Cruz, 2000) % 65 oranlarında *Sarcocystis* enfeksiyonu bildirilmiştir.

Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalarda da mandalarda Çetindağ ve Doganay (1996) % 13, Özer (1988) % 26.2, Dündar ve Özer (1996) % 39.2, Tüzdil (1936) % 78 ve Retzlaff ve Weise (1969) % 83.8 oranında *Sarcocystis* enfeksiyonu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada mandalarda moleküler olarak PZR ile % 70.47 oranında *Sarcocystis* enfeksiyonu saptanmış ve % 18 oranında da makroskobik kist kaydedilmiştir.

Dubey ve ark. (2015a), mandalarda bulunan *S. fusiformis*'in 3-10 mm uzunlukta ve 1-7 mm genişlikte olduğunu ve bulunduğu dokulardan kolaylıkla ayrılabilen makrokistler oluşturduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada tespit edilen *S. fusiformis* 'in makrokist formları, 3-11 mm arasında değişen uzunlukta ve 1-6 mm genişlikte ölçülmüştür (Şekil 18, 19). Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalarda sığırlarda *S. bovicanis*, *S. bovifelis* ve *S. bovihominis* olmak üzere üç farklı *Sarcocystis* türünün varlığı ortaya konulmuştur (Toparlak, 1987; Tüzer ve ark., 1987; Özer, 1988; Taşçı ve Değer, 1989; Arslan ve Umur, 1997; Güçlü ve ark., 2004). Elazığ'da mandalarda *S. fusiformis* dışında iki farklı mikroskobik tür bulunduğu bildirilmiş, makroskobik kistlerle enfeksiyon oranı ise, dişilere göre erkeklerde daha düşük (% 29,2) bulunmuştur (Özer, 1988). Mikroskobik kistlerle enfekte erkek ve dişi mandalarda, enfeksiyon oranı bakımından önemli bir farkın bulunmadığı belirtilmiş ve mandalarda *S. fusiformis*, *S. levinei* ve *Sarcocystis* spp. türleri saptanmıştır (Dündar ve Özer, 1996). Türkiye'de mandalarda yapılan diğer çalışmalarda ise *S. fusiformis*'in insidensi % 83.3'e kadar çıktığı bildirilmiştir (Retzlaff ve Weise, 1969; Retzlaff, 1972).

Bu çalışmada, mandalarda *S. fusiformis* makrokistleri saptanırken, moleküler olarak Türkiye'de mandalarda PZR-RFLP ile ilk kez *S. fusiformis* ve *S. cruzi* türleri tanımlanmıştır. Dünyada değişik ülkelerde *S. fusiformis* mandalarda en baskın tür olurken, Mısır'da mandalarda *S. cruzi* tespit edilmiştir (Latif ve ark., 2013; Metwally ve ark., 2014). Türkiye'de ise sığırlarda % 20-100 oranlarında *Sarcocystis* enfeksiyonu görülmesine rağmen, çalışmaların birçoğunda makrokist saptanamamış, mandalarda % 1.37-13 oranlarında makrokist kaydedilmiştir (Okur ve ark., 1995; Çetindağ ve Doğanay, 1996; Güçlü ve ark.,

2004; Çıtak, 2010). Mandalarda *S. fusiformis* ve *S. buffalonis* makroskopik olarak görülmekte ve her ikisinde de kedigillerin kesin konak olduğu bilinmekte, *S. levinei* ve *S. dubeyi* ise mandalarda mikrokist olarak bulunmaktadır (Huong, 1999).

Sarcocystis hominis ve bazı *Sarcocystis* türleri insanlarda kaslarda ve gastrointestinal sistemde bozukluk oluşturması, iyi pişmemiş hamburgerlerde tespit edilmesi yanında, Macaristan'da da sığırlarda saptanan *S. sinensis*'in zoonotik özelliği olabileceği dolayısıyla her iki türün halk sağlığını yakından ilgilendirdiği bildirilmektedir (Dubey ve Lindsay, 2006; Chen ve ark., 2011; Makhija, 2012; Hajimohammadi ve ark., 2014b; Hajimohammadi ve ark., 2014c; Hornok ve ark., 2015). *Sarcocystis* türlerinin morfolojik olarak ayırımlarının zor olduğu, *S. bovifelis*'in sığırlarda *S. hirsuta* ile farklılığı belirgin olmakla birlikte, *S. sinensis* ve *S. rommeli* ile benzer oldukları bildirilmiş, *S. bovifelis* benzeri *S. sinensis*'in ise mandalarda ayrı bir tür olduğu ortaya konmuştur (Chen ve ark., 2011; Zuo ve Yang, 2015; Dubey ve ark., 2016b; Gjerde, 2016). Kemiricilerde de monoklonal antikolarla *S. cruzi*'nin sporozoit, merozoit ve bradizoit antijenleri saptanmıştır (Burgess ve ark., 1988). Mısır'da mandalarda yapılan serolojik bir çalışmada *Sarcocystis* enfeksiyonunda yüksek sensitivite ve spesifite ile ELISA ve IHA testlerinde sırayla % 67.6 ve % 63.6 oranlarında seropozitiflik tespit edildiği bildirilmiştir (Ashmawy ve ark., 2014). Geyiklerde ve yaban domuzlarında da Litvanya'da sırasıyla % 83-92.7 oranında *Sarcocystis* enfeksiyonu tespit edilmiştir (Malakauskas ve Grikenienė, 2002). Bu çalışmada Türkiye'de ilk defa mandalarda moleküler olarak PZR-RFLP ile *S. cruzi* tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan Dra 1, Bsl 1, Fok 1 ve Ssp 1 endonukleaz enzimleri ile *Sarcocystis* spp.'yi kesme işlemi Jehle ve ark. (2009) ve Oryan ve ark. (2011) ile uyumlu bulunmuştur. Bu çalışmada mandalarda *S. cruzi* enfeksiyonu (% 50), *S. fusiformis* enfeksiyonundan (% 45.8) daha yaygın bulunmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Sonuç olarak *Sarcocystis* enfeksiyonu PZR ile Samsun yöresinde mandalarda %70.47 oranında yaygın bulunmuştur.

2. Geniş konak spektrumu olan, epidemiyolojik öneme sahip ve klinik olarak tespit edilmesi zor olan *Sarcocystis* türlerinin, Samsun yöresindeki mandalarda varlığı makroskobik, mikroskobik ve moleküler olarak belirlenmiştir.

3. Bu çalışmada mandalarda moleküler olarak RFLP ile *S. fusiformis*, *S. cruzi* ve *Sarcocystis* spp. olmak üzere üç tür saptanmıştır.

4. Türkiyede mandalarda *S. fusiformis* ve *S. cruzi* türleri moleküler olarak RFLP ile ilk olarak bu çalışma ile ortaya konmuştur.

Sarcocystis türlerinin ekonomik önemi ve bazılarının zoonotik özelliği olması nedeni ile, bölge ve ülke genelinde mandalarda *Sarcocystis* enfeksiyonuna neden olan türlerin, klinik belirtilere ve mikroskobik bulgulara göre teşhisi zor olduğu için, ileriye dönük spesifik moleküler tekniklerle daha kapsamlı epidemiyolojik çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Achuthan HN. Sarcocystis and sarcocystosis in buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. Ind Vet J. 1983;60:344-346.
- Akhlaghi M, Razavi M, Hosseini A. Molecular differentiation of bovine sarcocysts. Parasitol Res. 2016;115:2721-2728.
- Aleman M, Shapiro K, Sisó S, Williams DC, Rejmanek D, Aguilar B, Conrad PA. *Sarcocystis fayeri* in skeletal muscle of horses with neuromuscular disease. NMD. 2016;26:85-93.
- Arslan MO, Umur S. Kars ve Erzurum Yöresi sığırlarında Sarcocystosis'in yaygınlığı. Türkiye Parazitoloj Derg. 1997;21:417-420.
- Ashmawy KI, Abu-Akkada SS, Bn Ghashir M. Prevalence and molecular characterization of *Sarcocystis* species in water buffaloes (*Bubalus bubalus*) in Egypt. Trop Anim Health Prod. 2014;46:1351-1356.
- Atasever S, Erdem H. Manda yetiştiriciliği ve Türkiye'deki geleceği. OMÜ Zir Fak Derg. 2008;23:59-64.
- Aydın A, Göz Y. Hakkari Belediye Mezbahasında kesilen keçilerde Sarcosporidiosis'in yaygınlığı. YYU Vet Fak Derg. 2013;24(1):1-3.
- Barbosa L, Johnson CK, Lambourn DM, Gibson AK, Haman KH, Huggins JL, Sweeny AR, Natarajan Sundar, Raverty SA. A novel *Sarcocystis neurona* genotype XIII is associated with severe encephalitis in an unexpectedly broad range of marine mammals from the northeastern Pacific Ocean. Int J Parasitol. 2015;45:595-603.
- Barutzki D, Schaper R. Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999 – 2002. Parasitol Res. 2003;90:148-150.
- Beyazıt A, Yazıcıoğlu Ö, Karaer Z. The prevalence of ovine *Sarcocystis* species in Izmir province. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2007;54:111-116.
- Bowman DD, Hendrix CM, Lindsay DS, Barr SC. Feline Clinical Parasitology, Iowa State University Press, A Blackwell Science Company. 2002;3-469.
- Bugg RJ, Robertson ID, Elliot AD, Thompson RC. Gastrointestinal parasites of urban dogs in Perth, Western Australia. Vet J. 1999;157:295–301.
- Burgess DE, Speer CA, Reduker DW. Identification of antigens of *Sarcocystis cruzi* sporozoites, merozoites, and bradyzoites with monoclonal antibodies. J Parasit. 1988;74:828-832.
- Burgu A, Tınar R, Doğanay A, Toparlak M. Ankara'da sokak kedilerinin ekto ve endoparazitleri üzerinde bir araştırma. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 1985;32:288-300.

- Calero-Bernal R, Verma SK, Cerqueira-Cézar CK, Schafer LM, Van Wilpe E, Dubey JP. *Sarcocystis mehlhorni*, n. sp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) from the black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*). Parasitol Res. 2015;114:4397-4403.
- Cama V. Coccidian Parasites. In: Ortega YR, editor. Foodborne Parasites Springer Science+Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, USA. 2006; 33-55.
- Caruso JP. Investigations upon the immune response of elk (*Cervus canadensis*) to *Sarcocystis* infections. The Graduate School of the University of Wyoming, Master of Science, 1980; 1-38.
- Cawthorn RJ, Speer CA. Sarcocystis: infection and disease of humans, livestock, wildlife, and other hosts. In: Long PL, Editor. Coccidiosis of man and domestic animals. Boston, USA, CRC Press inc. 1990; 91-120.
- Chen X, Zuo Y, Rosenthal BM, He Y, Cui L, Yang Z. *Sarcocystis sinensis* is an ultrastructurally distinct parasite of water buffalo that can cause foodborne illness but cannot complete its life-cycle in human beings. Vet Parasitol. 2011;178:35-39.
- Chhabra MB, Samantaray S. Sarcocystis and sarcocystosis in India: status and emerging perspectives. J Parasit Dis. 2013;37:1-10.
- Claveria FG, Cruz MJ. *Sarcocystis levinei* infection in Philippine water buffaloes (*Bubalus bubalis*). Parasitol Int. 2000;48:243-247.
- Çetindağ M, Doğanay A. Samsun yöresi mandalarında sindirim sistemi helmintleri. Etlik Vet Mikrobiyol Derg. 1996;8:46-57.
- Çıtak V. Yalova mezbahasında kesilen hayvanlarda sarcosporidiosisin yayılışı. YYÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, 2010; 1-28.
- Dean B. Studies of the pathogenesis of experimentally induced bovine sarcocystosis. Iowa State University Ames, Iowa, PhD thesis, 1980; 1-89.
- Dey S, Khatkar SK, Ghosh JD, Akbar MA. Clinico-haematological and serum biochemical changes in piglets experimentally infected with *Sarcocystis meischeriana*. Indian Vet J. 1995;72:126-130.
- Dubey JP, Odening K. Toxoplasmosis and related infections. In: Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA, editors. Parasitic Diseases of Wild Mammals. Iowa State University Press/Ames, 2008; 479-519.
- Dubey JP, Lindsay DS. Neosporosis, toxoplasmosis, and sarcocystosis in ruminants. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2006;22:645-671.
- Dubey JP, Fayer R, Rosenthal BM, Calero-Bernal R, Uggla A. Identity of *Sarcocystis* species of the water buffalo (*Bubalus bubalis*) and cattle (*Bos taurus*) and the suppression of *Sarcocystis sinensis* as a nomen nudum. Vet Parasitol. 2014;205:1-6.

- Dubey JP, Calero-Bernal R, Rosenthal BM, Speer CA, Fayer R. Sarcocystosis of Animals and Humans,. Second Edition, CRC Press. 2015a;1-375.
- Dubey JP, Hilali M, Wilpe EV, Verma SK, Calero-Bernal R, Abdel-Wahab A. Redescription of *Sarcocystis fusiformis* sarcocysts from the water buffalo (*Bubalus bubalis*). Parasitology. 2015b;142:385–394.
- Dubey JP, Sykes JE, Shelton GD, Sharp N, Verma SK, Calero-Bernal R, Viviano J, Sundar N, Khan A, Grigg ME. *Sarcocystis caninum* and *Sarcocystis svanai* n. spp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) associated with severe myositis and hepatitis in the domestic dog (*Canis familiaris*). J Eukaryot Microbiol. 2015c;62:307-317.
- Dubey JP, van Wilpe E, Verma SK, Hilali M. Ultrastructure of *Sarcocystis bertrami* sarcocysts from a naturally infected donkey (*Equus asinus*) from Egypt. Parasitology. 2016a;143:18-23.
- Dubey JP, More G, van Wilpe E, Calero-Bernal R, Verma SK, Schares G. *Sarcocystis rommeli*, n. sp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) from cattle (*Bos taurus*) and its differentiation from *Sarcocystis hominis*. J Eukaryot Microbiol. 2016b;63:62-68.
- Dubey JP, Greene CE. Enteric coccidiosis. In: Infectious diseases of the dog and cat. Fourth Edition, Greene CE. Editor. Linda Duncan, The University of Georgia-USA. 2012; 828-839.
- Dubey JP, Fayer R, Speer CA. Experimental *Sarcocystis hominis* infection in Cattle: Lesions and ultrastructure of *Sarcocysts*. J Parasitol. 1988;74:875-879.
- Dubey JP, Venturini MC, Venturini L, McKinney J, Pecoraro M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. Vet Parasitol. 1999;86:59-62.
- Dubna S, Langrová I, Nápravník J, Jankovská I, Vadlejch J, Pekár S, Fechtner J. The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of the Czech Republic. Vet Parasitol. 2007;145:120–128.
- Dumanlı N. Elazığ yöresinde köpeklerde görülen protozoonların insidensi üzerinde bir araştırma. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 1984;31:383-387.
- Dündar B, Özer E. Mandalarda bulunan *Sarcocystis* türleri ve gelişmeleri. Etlik Vet Mikrobiyol Derg. 1996;3:58-69.
- El-Dakhly KM, El-Nesr KA, El-Nahass ES, Hirata A, Sakai H, Yanai T. Prevalence and distribution patterns of *Sarcocystis* spp. in buffaloes in Beni-Suef, Egypt. Trop Anim Health Prod. 2011;43:1549-1554.
- El-Seify M, El-Morseay A, Hilali M, Zayed A, El-Dakhly K, Haridy M, Sakai H, Yanai T. Molecular characterization of *Sarcocystis fusiformis* and *Sarcocystis buffalonis* infecting water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. AJAVS. 2014;9:95-104.

- Fayer R. Multiplication of *Sarcocystis bovicanis* in the bovine bloodstream. J Parasitol. 1979;65:980-982.
- Fayer R, Lunde MN. Changes in serum and plasma proteins and in IgG and IgM antibodies in calves experimentally infected with *Sarcocystis fusiformis* from dogs. J Parasitol. 1977;63:438-442.
- Fayer R. *Sarcocystis* spp. in human infections. Clin Microbiol Rev. 2004;17:894-902.
- Fayer R, Dubey JP. Bovine sarcocystosis. Comp Contin Educ Pract Vet. 1986;8:130-142.
- Flandrin C. Etude de la prevalence de la sarcosporidiose chez les bovins abattus en region midi-pyrenes Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. PhD thesis, 2014; 15-86.
- Fontanarrosa MF, Vezzani D, Basabe J, Eiras DF. An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina): Age, gender, breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. Vet Parasitol. 2006;136:283–295.
- Ford GE, Fayer R, Adams M, O'Donoghue PJ, Dubey JP, Baverstock PR. Genetic characterisation by isoenzyme markers of North American and Australian isolates of species of *Sarcocystis* (Protozoa: Apicomplexa) from mice, sheep, goats and cattle. Syst Parasitol. 1987;9:163-167.
- Frenkel JK. Tissue-dwelling intracellular parasites: Infection and immune responses in the mammalian host to *Toxoplasma*, *Sarcocystis* and *Trichinella*. Am Zool. 1989;29:455-467.
- Gillis JM. Light and electron microscopic observations of in vitro excystation and asexual development of two bovine *Sarcocystis* species (Apicomplexa, Sarcocystidae). Department of Pathology and Microbiology Faculty of Veterinary Medicine University of Prince Edward Island, Charlottetown, P.E.I. Canada. ISBN 0-315-88455-X, 395, rue Wellington Ottawa (Ontario) K 1A0N 4, PhD thesis, 1993; 1-193.
- Gill HS, Singh A, Vadehra DV, Sethi SK. Shedding of unsporulated Isosporan oocysts in feces by dogs fed diaphragm muscles from water buffalo (*Bubalus bubalis*) naturally infected with *Sarcocystis*. J Parasitol. 1978;64:549-551.
- Gjerde B. Phylogenetic relationships among *Sarcocystis* species in cervids, cattle and sheep inferred from the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene. Int J Parasitol. 2013;43:579-591.
- Gjerde B. The resurrection of a species: *Sarcocystis bovifelis* Heydorn et al., 1975 is distinct from the current *Sarcocystis hirsuta* in cattle and morphologically indistinguishable from *Sarcocystis sinensis* in water buffaloes. Parasitol Res. 2016;115:1-21.

- Gökpınar S, Yıldız K, Gurcan IS. Prevalence and concentration of *Sarcocystis* spp. microscopic cysts in sheep muscles using percoll gradient centrifugation. *Isr J Vet Med.* 2014;69:16-19.
- Granstrom DE. Type-I hypersensitivity as a component of eosinophilic myositis (muscular sarcocystosis) in cattle. Kansas State University, Manhattan, Kansas, PhD thesis, 1988;1-114.
- Griffiths HJ. A Handbook of Veterinary Parasitology Domestic Animals of North America, ISBN 0-8166-0828-8, Veterinary Pathobiology University of Minnesota, Canada by Burns & MacEachern Limited, Don Mills, Ontario. 1978; 1-248.
- Güçlü F, Aydenizöz M. Konya’da köpeklerde dışkı bakılarına göre parazitlerin yayılışı. *Türkiye Parazitol Derg.* 1995;19:550-556.
- Güçlü F, Aldemir OS, Güler L. Differential identification of cattle *Sarcocystis* spp. by random amplified Polymorphic DNA -Polymerase chain reaction (RAPD-PCR). *Revue Méd Vét.* 2004;155 (8-9):440-444.
- Hajimohammadi B, Zohourtabar A, Bafghi AF, Omidpanah A, Rayati T, Ghasemi A, Sazmand A. Occurrence and distribution of *Sarcocystis* parasite isolated from sheep in Yazd Province, Iran. *JCHR.* 2014a;3:204-209.
- Hajimohammadi B, Ahmadi MM, Eslami G, Oryan A, Dehghani A, Zohourtabar A. Molecular method development to identify foodborne *Sarcocystis hominis* in raw beef commercial Hamburger. *Int J Enteric Pathog.* 2014b;2:1-3.
- Hajimohammadi B, Dehghani A, Ahmadi MM, Eslami G, Oryan A, Khamesipour A. Prevalence and species identification of *Sarcocystis* in raw hamburgers distributed in Yazd, Iran using PCR-RFLP. *J Food Qual Hazards Control.* 2014c;1:15-20.
- Heckerth AR, Tenter AM. Sarcocystiosis. In: Ortega-Mora LM, Gottstein B, Conraths FJ, Buxton D. Editors. Protozoal abortion in farm ruminants. Athenaeum Press, Gateshead, UK, CABI Head Office Nosworthy Way Wallingford Oxfordshire OX10 8DE UK.2007; 172-231.
- Heckerth AR, Tenter AM. Development and validation of species-specific nested PCRs for diagnosis of acute sarcocystiosis in sheep. *Int J Parasitol.* 1999;29:1331-1349.
- Hekimoğlu B. Dünyada Türkiye’de ve Samsun ilinde manda üretimi ve Samsun’da manda sütü ürünleri potansiyeli. [https://samsun.tarim.gov.tr/Belgeler/ Yayinlar/ Tarimsal strateji/dun.turk_ve_samsun_ilinde_manda_uretimi_ve_samsunda.pdf](https://samsun.tarim.gov.tr/Belgeler/Yayinlar/Tarimsal_strateji/dun.turk_ve_samsun_ilinde_manda_uretimi_ve_samsunda.pdf) , 2017.
- Heydorn AO, Mehlhorn GR, Rommel M. Proposal for a new nomenclature of the Sarcosporidia. *Parasitol Res.* 1975;48:73-82.

- Hornok S, Mester A, Takács N, Baska F, Majoros G, Fok E, Biksi I, Német Z, Hornyák A, Jánosi Z, Farkas R. Sarcocystis-infection of cattle in Hungary. *Parasit Vectors*. 2015;8:1-6.
- Huong LTT. Prevalence of *Sarcocystis* spp. in water buffaloes in Vietnam. *Vet Parasitol*. 1999;86:33-39.
- Huong LTT, Dubey JP, Uggla A. Redescription of *Sarcocystis levinei* Dissanaïke and Kan, 1978 (Protozoa: Sarcocystidae) of the water buffalo (*Bubalus bubalis*). *J Parasitol*. 1997;83:1148-1152.
- Jaekel T, Khoprasert Y, Kliemt D, Mackenstedt U. Immunoglobulin subclass responses of wild brown rats to *Sarcocystis singaporensis*. *Int J Parasitol*. 2001;31:273-283.
- Jehle C, Dinkel A, Sander A, Morent M, Romig T, Luc PV, De TV, Thai VV, Mackenstedt U. Diagnosis of *Sarcocystis* spp. in cattle (*Bos taurus*) and water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Northern Vietnam. *Vet Parasitol*. 2009;166:314-320.
- Konrad JL, Campero LM, Caspe GS, Brihuega B, Draghi G, Moore DP, Crudeli GA, Venturini MC, Campero CM. Detection of antibodies against *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., and *Apicomplexa* protozoa in water buffaloes in the Northeast of Argentina. *Trop Anim Health Prod*. 2013;45:1751-1756.
- Kutkiene L, Prakas P, Butkauskas D, Sruoga A. Description of *Sarcocystis turdusi* sp. nov. from the common blackbird (*Turdus merula*). *Parasitology*. 2012;139:1438-1443.
- Langham NPE, Charleston WAG. An investigation of the potential for spread of *Sarcocystis* spp. and other parasites by feral cats. *New Zeal J Agr Res*. 1990;33:429-435.
- Latif B, Vellayan S, Heo CC, Kannan Kutty M, Omar E, Abdullah S, Tappe D. High prevalence of muscular sarcocystosis in cattle and water buffaloes from Selangor, Malaysia. *Trop Biomed*. 2013;30:699-705.
- Leek RG, Fayer R. Experimental *Sarcocystis ovicanis* Infection in lambs: Salinomycin chemoprophylaxis and protective Immunity. *J Parasitol*. 1983;69:271-276.
- Levine ND. *Veterinary Protozoology*. First edition, Iowa State University Press. Ames, Iowa 50010. 1985; 1-414.
- Levine ND. The taxonomy of *Sarcocystis* (Protozoa, Apicomplexa) species. *J Parasitol*. 1986;72:372-382.
- Li QQ, Yang ZQ, Zuo YX, Attwood SW, Chen XW, Zhang YP. A PCR-based RFLP analysis of *Sarcocystis cruzi* (Protozoa: Sarcocystidae) in Yunnan province, PR China, reveals the water buffalo (*Bubalus bubalis*) as a natural intermediate host. *J Parasitol*. 2002;88:1259-1261.

- Lindsay DS, Thomas NJ, Dubey JP. Biological characterisation of *Sarcocystis neurona* isolated from a Southern sea otter (*Enhydra lutris nereis*). Int J Parasitol. 2000;30:617-624.
- Makhija M. Histological identification of muscular sarcocystis: a report of two cases. Indian J Pathol Microbiol. 2012;55:552-554.
- Malakauskas M, Grikiėnienė J. Sarcocystis infection in wild ungulates in Lithuania. Acta Zool Litu. 2002;12:372-380.
- Mehlhorn H. Encyclopedia of Parasitology, Third Edition, Vol. 2, Springer-Verlag Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 2008;1-1573.
- Mehlhorn H. Progress in Parasitology, Springer Heidelberg Dordrecht London New York, Department of Zoomorphology Cell Biology and Parasitology Heinrich Heine University Universitaetsstrasse 1 40225 Dusseldorf Germany. 2011;1-338.
- Metwally AM, Abd Ellah MR, Al-Hosary AA, Omar MA. Microscopical and serological studies on *Sarcocystis* infection with first report of *S. cruzi* in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Assiut, Egypt. J Parasit Dis. 2014;38:378-82.
- Mimioğlu M, Gökso K, Sayın F. Veteriner ve Tıbbi Protozooloji. II., Vol., Ankara Üniv. Basımevi, Ankara. 1969; 1-1313.
- Mircean V, Titilincu A, Văsile C. Prevalence of endoparasites in household cat (*Felis catus*) populations from Transylvania (Romania) and association with risk factors. Vet Parasitol. 2010;171:163-166.
- More G, Schares S, Maksimov A, Conraths FJ, Venturini MC, Schares G. Development of a multiplex real time PCR to differentiate *Sarcocystis* spp. affecting cattle. Vet Parasitol. 2013;197:85-94.
- Ndiritu W. Diagnosis of acute bovine sarcocystosis using genomic DNA probes. Department of Pathology and Microbiology Faculty of Veterinary Medicine University of Prince Edward Island, Canada, Master of Science, 1994; 1-101.
- Nichols GL. Food-borne protozoa. Br Med Bull. 1999;55:209-235.
- O'Donoghue PJ, Wilkinson RG. Antibody development and cellular immune responses in sheep immunized and challenged with *Sarcocystis tenella* sporocysts. Vet Parasitol. 1988;27:251-265.
- Okur H, Kandemir O, Şahin I. An Investigation on *Sarcocystis* species in the cattle and the sheep in Bayburt. Türkiye Parazitol Derg. 1995;19:113-118.
- Oliveira-Sequeira TCG, Amarante AF, Ferrari TB, Nunes LC. Prevalence of intestinal parasites in dogs from Sao Paulo State, Brazil. Vet Parasitol. 2002;103:19-27.

- Oryan A, Sharifiyazdi H, Khordadmehr M, Larki S. Characterization of *Sarcocystis fusiformis* based on sequencing and PCR-RFLP in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Iran. Parasitol Res. 2011;109:1563-1570.
- Oryan A, Ahmadi N, Mousavi SM. Prevalence, biology, and distribution pattern of *Sarcocystis* infection in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Iran. Trop Anim Health Prod. 2010;42:1513-1518.
- O'Toole D, Duffell SJ, Upcott DH, Frewin D. Experimental microcyst *Sarcocystis* infection in lambs: Pathology. Vet Rec. 1986;119:525-535.
- Özkayhan MA, Karaer Z, İlkme AN, Atmaca HT. Kırıkkale Belediye Mezbahası'nda kesilen koyunlarda *Sarcocystis* türlerinin yaygınlığı. Türkiye Parazitoloj Derg. 2007; 31: 272-276.
- Özer E. *Sarcocystis capracanis* (Fiescher, 1979)'in biyolojisi ve patojenitesi üzerinde deneysel bir araştırma. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 1984;31:431-451.
- Özer E. Elazığ Mezbahasında kesilen sığır ve mandalarda *Sarcocystis* türleri ve insidensi üzerinde araştırmalar. Turk Vet Hayv Derg. 1988;12:130-139.
- Patton S, Rabinowitz AR. Parasites of wild felidae in Thailand: A coprological survey. J Wild Dis. 1994;30:472-475.
- Prakas P, Butkauskas D. Protozoan parasites from genus *Sarcocystis* and their investigations in Lithuania. Ekologija. 2012;58:45-58.
- Retzlaff N, Weise E. Sarcosporidia in the Turkish water buffalo (*Bubalus bubalis*). Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 1969;82:283-286.
- Retzlaff N. Über das Vorkommen von sarcosporidien bei schlachtschafen und schlachtziegen in der Türkei. Tierärztl Wschr, Berl Munch. 1972;72:192-196.
- Roberts JF, Wellehan Jr JFX, Weisman JL, Rush M, Childress AL, Lindsay DS. Massive muscular infection by a *Sarcocystis* species in a South American rattle snake (*Crotalus durissus terrificus*). J Parasitol. 2015;101:386-389.
- Sevinç F, Altınöz F, Uslu U, Aldemir OS. Koyunlarda sarcocystis türlerinin yaygınlığı. Vet Bil Derg. 2000;16:75-79.
- Şaki CE, Değer S, Özer E. Türkiye'de Sarcosporidiosis. YYU Vet Fak Derg. 2010;21:129-134.
- Taşçı S, Değer S. Van Mezbahasında kesilen koyunlarda Sarcosporidiosis'in yayılışı. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 1989;36:540-552.
- Toparlak M. Isolation of *Sarcocystis* cysts from bovine muscles by using a modified trypsin digestion technique. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 1987;34:363-367.
- Tüzdil AN. Mezbahalara Mahsus Parazitoloji, Ziraat Vekâleti, Ankara, Türkiye. 1936;1-214.

- Tüzer E, Demir S, Aydın O. Bursa yöresi sığırlarında Sarcosporidiozis. İstanbul Üniv Vet Fak Derg. 1987;13:21-30.
- Ugla A, Buxton D. Immune responses against *Toxoplasma* and *Sarcocystis* infections in ruminants: diagnosis and prospects for vaccination Rev Sci Tech Off Int Epiz. 1990;9:441-462.
- Umur S, Arslan MO. Kars yöresi sokak köpeklerinde sörülen helmint türlerinin yayılışı. Türkiye Parazitolo Derg. 1998;22:188-193.
- Vangeel L, Houf K, Geldhof P, De Preter K, Vercruyssen J, Ducatelle R, Chiers K. Different *Sarcocystis* spp. are present in bovine eosinophilic myositis. Vet Parasitol. 2013;197:543-548.
- Von Sonnenburg F, Cramer JP, Freedman DO, Plier DA, Esposito DH, Sotir MJ, Lankau EW, Esposito DH. Notes From the Field: Acute muscular sarcocystosis among returning travelers—Tioman Island, Malaysia. MMWR. CDC. 2012;61:37-38.
- Ward KJ. Hematologic and Serologic Studies of Calves Experimentally Infected with *Sarcocystis hirsuta*. Department of Veterinary Sciences and The Graduate School of the University of Wyoming Laramie, Wyoming, Master of Science, 1987; 1-41.
- Yang ZQ, Zuo YX, Yao YG, Chen XW, Yang GC, Zhang YP. Analysis of the 18S rRNA genes of *Sarcocystis* species suggests that the morphologically similar organisms from cattle and water buffalo should be considered the same species. Mol Biochem Parasitol. 2001;115:283-288.
- Yang ZQ, Li QQ, Zuo YX, Chen XW, Chen YJ, Nie L, Wei CG, Zen JS, Attwood SW, Zhang XZ, Zhang YP. Characterization of *Sarcocystis* species in domestic animals using a PCR-RFLP analysis of variation in the 18S rRNA gene: a cost-effective and simple technique for routine species identification. Exp Parasitol. 2002;102:212-217.
- Yilmaz O, Ertugrul M, Wilson RT. Domestic livestock resources of Turkey: water buffalo. Trop Anim Health Prod. 2012;44:707-714.
- Zuo YX, Yang ZQ. The validity of *Sarcocystis sinensis*. Zool Res. 2015;36:109-111.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Ahmet Kadir SAYILIR

Doğum Yeri: Çankırı

Doğum Tarihi:11/05/1987

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans - Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi - 2011

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

- Mutena Et Entegre Tesisi (2012)
- Bafra Gıda Tarım ve Hayvancılık İlçe Müdürlüğü (2013)

E-posta: ahmetsayilir@hotmail.com