

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARS YÖRESİNDE SIĞIR VE KÖPEKLERDE *NEOSPORA*  
*CANINUM* ÜZERİNDE EPİDEMİYOLOJİK ARAŞTIRMALAR:  
GRUPLAR ARASI ÇALIŞMA**

**Öğr. Gör. Bio. NERİMAN MOR**  
**Parazitoloji Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Atila AKÇA**

**2010 - KARS**

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

**KARS YÖRESİNDE SIĞIR VE KÖPEKLERDE *NEOSPORA  
CANINUM* ÜZERİNDE EPİDEMİYOLOJİK ARAŞTIRMALAR:  
GRUPLAR ARASI ÇALIŞMA**

**Öğr. Gör. Bio. NERİMAN MOR  
Parazitoloji Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Atila AKÇA**

**Bu araştırma Kafkas Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar  
Komisyonu'na desteklenmiştir.  
(Proje No: 2008- VF- 07)**

**2010 - KARS**

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	İİ
İÇİNDEKİLER .....	İİİ
TABLO LİSTESİ.....	Vİİ
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	İX
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	X
ÖNSÖZ .....	Xİİ
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. <i>Neospora caninum</i> 'un Sistematikteki Yeri ve Tarihçesi.....	2
1.2. Morfoloji .....	3
1.3. Biyolojik Gelişme .....	5
1.4. Klinik ve Patolojik Bulgular .....	7
1.4.1. Klinik Bulgular.....	7
1.4.2. Patolojik Bulgular .....	9
1.4.2.1. Sığırlarda patolojik bulgular.....	9
1.4.2.2. Köpeklerde patolojik bulgular.....	12
1.5. Konakta İmmün Yanıt.....	12
1.5.1. Humoral İmmün Yanıt .....	12
1.5.2. Hücreyel İmmün Yanıt .....	14
1.6. Teşhis .....	14
1.6.1. Patolojik Lezyonlar .....	15
1.6.2. Hematoksilen - Eozinle (HE) Boyama.....	15
1.6.3. İmmunohistokimyasal (IHC) Boyama .....	16
1.6.4. Serolojik Yöntemler .....	18
1.6.4.1. İndirekt Floresan Antikor Test (IFAT).....	20
1.6.4.2. Enzim Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) .....	22
1.6.4.3. Direkt Aglutinasyon Testi (DAT) .....	26
1.6.4.4. Western Blot (İmmunoblotting) .....	28
1.6.4.5. Rapid Immunochromatographic Test (RIT).....	29
1.6.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR, PCR) .....	29

1.6.6. Kültür .....	31
1.7. Tedavi.....	31
1.8. Epidemiyoloji.....	33
1.8.1. Bulaşma Yolları.....	33
1.8.2. Risk Faktörleri.....	34
1.8.2.1. Sığırların Yaşı.....	34
1.8.2.2. Son Konaklar (Köpek ve Koyota).....	34
1.8.2.3. Diğer Karnivorlar .....	35
1.8.2.4. Sığır dışında diğer arakonaklar.....	35
1.8.2.5. Yem ve içme suyu .....	36
1.8.2.6. Kolostrum ve Süt.....	36
1.8.2.7. Irk .....	36
1.8.3. Prevalans .....	37
1.8.3.1. Sığırlarda Neosporosis .....	37
1.8.3.2. Köpeklerde Neosporosis.....	40
1.8.3.3. Su Mandalarında Neosporosis.....	43
1.8.3.4. Koyunlarda Neosporosis .....	44
1.8.3.5. Keçilerde Neosporosis.....	45
1.8.3.6. Atlarda Neosporosis .....	46
1.8.3.7. İnsanlarda Neosporosis.....	47
1.8.3.8. Yabani Hayatta Neosporosis .....	48
1.8.3.9. Türkiye’de <i>Neospora caninum</i> ’un Prevalansı.....	50
1.8.4. Ekonomik Önemi .....	54
1.9. Korunma ve Kontrol.....	55
1.10. Aşı .....	55
2. MATERYAL VE METOT .....	57
2.1. Materyal .....	57
2.1.1. Çalışma Alanı .....	57
2.1.1.1. İthal Sığırların veya Jenerasyonlarının Girdiği Köyler .....	61
2.1.1.2. İthal Sığırların veya Jenerasyonlarının Girmediği Köyler .....	63
2.1.2. Çalışma Grupları .....	64
2.1.3. Kan ve Dışkı Örneklerinin Toplanması .....	66

2.1.4. Laboratuvar Malzemeleri .....	67
2.1.4.1. ELISA’da Kullanılan Malzemeler.....	67
2.1.4.2. IFAT’ta Kullanılan Malzemeler .....	68
2.1.4.3. Dışkı Muayenesinde Kullanılan Malzemeler .....	68
2.1.5. Kimyasal Maddeler .....	69
2.1.6. Fotoğraf Çekiminde Kullanılan Malzemeler.....	69
2.2. Metot .....	69
2.2.1. Kompetitif inhibisyon ELISA (CI-ELISA).....	69
2.2.1.1. ELISA Testinin Yapılışı.....	70
2.2.1.2. Testin Değerlendirilmesi .....	72
2.2.2. İndirekt Fluoresan Antikor Testi (IFAT) .....	72
2.2.2.1. IFA Testinin Yapılışı.....	73
2.2.2.2. Testin Değerlendirilmesi .....	74
2.2.3. Dışkı Muayenesi.....	75
2.2.3.1. Nativ Dışkı Muayenesi .....	75
2.2.3.2. Sheather’in Yoğun Şekerli Su ile Yüzdürme Yöntemi .....	75
2.2.4. Dışkıdaki Ookistlerin Purifikasyonu ve Sporlandırılması .....	76
2.2.5. İstatistik Değerlendirme .....	76
3. BULGULAR.....	77
3.1. Kars Yöresinde Sığır ve Köpeklerde <i>N.caninum</i> ’un Görülme Sıklığı .....	77
3.1.1. Kars Yöresinde Sığırlarda CI-ELISA ile Seropozitiflik Durumu .....	78
3.1.2. Kars Yöresinde Köpeklerde IFAT ile Seropozitiflik Durumu .....	80
3.1.3. Kars Yöresi Köpek Dışkılarında Mikroskopik Yoklama Bulguları.....	82
3.2. İthal Hayvanların Girdiği Köylere (Grup 1) Ait Bulgular .....	83
3.2.1. Grup 1 Sığırlarda ELISA ile Seropozitiflik Durumu .....	83
3.2.2. Grup 1 Köpeklerde IFAT ile Seropozitiflik Durumu.....	85
3.3. İthal Hayvanların Girmedikleri Köylere (Grup 2) Ait Bulgular .....	87
3.3.1. Grup 2 Sığırlarda ELISA ile Seropozitiflik Durumu .....	87
3.3.2. Grup 2 Köpeklerde IFAT ile Seropozitiflik Durumu.....	88
3.4. İthal Hayvanların Girdiği ve Girmedikleri Köyler Arası Karşılaştırma.....	90
3.4.1. Sığırlarda ELISA Bulgularını Karşılaştırma .....	90
3.4.2. Köpeklerde IFAT Bulgularını Karşılaştırma.....	92

4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	94
ÖZET.....	106
SUMMARY .....	107
KAYNAKLAR .....	108
ÖZGEÇMİŞ .....	133
EKLER.....	134

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1 – <i>N.caninum</i> ile enfekte sığırlarda antikorları saptamak için geliştirilen serolojik testler .....	19
Tablo 1.2 - Ticari kit haline getirilmiş serolojik testler .....	20
Tablo 2.1- 1975 – 2008/2009 yılları arası verilerine göre Kars ilinde aylık iklim değerleri.....	58
Tablo 2.2 - Araştırmanın yürütüldüğü köylerin nüfusları, büyük baş hayvan sayıları ve coğrafi konumları .....	61
Tablo 2.3 - Yerleşim yerlerine göre materyal toplanan sığır ve köpek sayıları.....	65
Tablo 2.4- Kan alınan sığırların ırk ve yaş gruplarına göre dağılımı.....	65
Tablo 2.5- Kan alınan köpeklerin yaş gruplarına, cinsiyet ve ırka göre dağılımı.....	66
Tablo 3.1- Kars yöresinde <i>N.caninum</i> 'un sığırlarında CI-ELISA, köpeklerde IFAT ile seroprevalansı ve köpek dışkılarında <i>N.caninum</i> benzeri ookistlerin görülme sıklığı .....	77
Tablo 3.2- Kars yöresinde CI-ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif sığırların görülme sıklığı.....	78
Tablo 3.3- Kars yöresinde yaş gruplarına göre CI-ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif sığırların görülme oranları.....	79
Tablo 3.4-Kars yöresinde atık yapan ve yapmayan sığırlar arasında CI-ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif olanların görülme oranları.....	79
Tablo 3.5-Kars yöresinde IFAT ile <i>N.caninum</i> -seropozitif köpeklerin görülme sıklığı .....	80
Tablo 3.6-Kars yöresinde cinsiyet, ırk ve yaş gruplarına göre IFAT ile <i>N.caninum</i> -seropozitif köpeklerin görülme oranları.....	81
Tablo 3.7-IFAT ile pozitif bulunan köpek serumlarında <i>N.caninum</i> 'a karşı oluşan antikor (IgG) titre değerleri dağılımı.....	81
Tablo 3.8-Kars yöresinde dışkısında <i>Neospora</i> -benzeri ookist bulunan köpeklerin görülme sıklığı .....	82
Tablo 3.9- Kars yöresinde ithal sığırların girdiği köylerde CI-ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif sığırların görülme sıklığı.....	83



Tablo 3.10- İthal sığırların girdiği köylerde yerli ve ithal sığırlarda CI-ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif olanların görülme oranları.....	84
Tablo 3.11-İthal sığırların girdiği köylerde yaş gruplarına göre CI-ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif sığırların görülme oranları.....	85
Tablo 3.12- Kars yöresinde ithal sığırların girdiği köylerde IFAT ile <i>N.caninum</i> -seropozitif köpeklerin görülme sıklığı .....	86
Tablo 3.13- İthal sığırların girdiği köylerde cinsiyet, ırk ve yaş gruplarına göre IFAT ile <i>N.caninum</i> -seropozitif köpeklerin görülme oranları.....	86
Tablo 3.14-Kars yöresinde ithal sığırların girmediği köylerde ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif sığırların görülme sıklığı.....	87
Tablo 3.15-İthal sığırların girmediği köylerde yaş gruplarına göre CI-ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif sığırların görülme oranı.....	88
Tablo 3.16- Kars yöresinde ithal sığırların girmediği köylerde IFAT ile <i>N.caninum</i> -seropozitif köpeklerin görülme sıklığı .....	89
Tablo 3.17-İthal sığırların girmediği köylerde cinsiyet, ırk ve yaş gruplarına göre IFAT ile <i>N.caninum</i> -seropozitif köpeklerin görülme oranı .....	89
Tablo 3.18- İthal hayvanların girdiği ve girmediği köylerde CI-ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif sığırların görülme oranları karşılaştırması .....	90
Tablo 3.19- İthal sığırların girdiği ve girmediği köylerde yerli sığırlar arasında CI-ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif olanların görülme oranları karşılaştırması .....	91
Tablo 3.20- İthal sığırların girdiği ve girmediği köylerde yaş gruplarına göre CI-ELISA ile <i>N.caninum</i> -seropozitif sığırların görülme oranları karşılaştırması .....	92
Tablo 3.21- İthal sığırların girdiği ve girmediği köylerde IFAT ile <i>N.caninum</i> -seropozitif köpeklerin görülme oranları karşılaştırması .....	92
Tablo 3.22- İthal sığırların girdiği (Gr 1) ve girmediği (Gr 2) köylerde cinsiyet, ırk ve yaş gruplarına göre IFAT ile <i>N.caninum</i> -seropozitif köpeklerin görülme oranları karşılaştırması .....	93

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

Şekil 1.1 - <i>Neospora caninum</i> 'un gelişme evreleri .....	5
Şekil 1.2 - <i>Neospora caninum</i> 'un biyolojik gelişmesi .....	7
Şekil 2.1 - Çalışmanın yapıldığı odaklar.....	60
Şekil 2.2- IFA Testinde pozitif (A) ve negatif (B) sonuç .....	74
Şekil 3.1- Köpek dışkısında <i>Neospora</i> benzeri ookistler .....	83

**SİMGELER ve KISALTMALAR**

<b>cELISA</b>	: Kompetatif ELISA
<b>CI-ELISA</b>	: Kompetatif İnhibisyon ELISA
<b>DAT</b>	: Direkt Aglütinasyon Test
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>EDTA</b>	: Etilendiamintetraasetik asit
<b>EIA</b>	: Enzim İmmun Assay
<b>ELISA</b>	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
<b>HE</b>	: Hematoksilen-Eozin boyama
<b>IAT</b>	: İndirekt Aglütinasyon Test
<b>IC</b>	: İmmunoComb
<b>IFN</b>	: İnterferon
<b>IFAT</b>	: İndirekt Floresan Antikor Test
<b>IgG</b>	: İmmunglobulin G
<b>IgM</b>	: İmmunglobulin M
<b>IHAT</b>	: İndirekt Hemaglütinasyon Test
<b>IHC</b>	: İmmunohistokimyasal Test
<b>IIFT</b>	: İndirekt İmmunofloresan Test
<b>IL12</b>	: İnterlökin 12
<b>MAT</b>	: Modifiye Aglütinasyon Test
<b>mAb</b>	: Monoklonal Antikor
<b>MSS</b>	: Merkezi Sinir sistemi
<b>NAT</b>	: <i>Neospora</i> Aglütinasyon Test
<b>NC</b>	: <i>Neospora caninum</i>
<b>NcSAG1</b>	: <i>Neospora caninum</i> surface Antigen 1
<b>O.D.</b>	: Optik Dansite
<b>OPG</b>	: Gram dışındaki ookist sayısı
<b>OR</b>	: Odds Ratio
<b>pAb</b>	: Poliklonal Antikor
<b>PAS</b>	: Periyodik Asit Schiff Boyası
<b>PBS</b>	: Phosphate Buffered Saline

<b>PCR (PZR)</b>	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyon)
<b>RIT</b>	: Rapid Immunochromatographic Test
<b>TcR</b>	: T hücre reseptörü (= T cell receptor)
<b>Th</b>	: T helper lenfosit
<b>Th-1</b>	: T helper 1
<b>Th-2</b>	: T helper 2
<b>WB</b>	: Western Blot analizi

## ÖNSÖZ

Sığır yetiştiriciliği Kars ilinde yöre halkına başlıca iş ve gelir kaynağı sağlamakta, ancak abortlar hayvancılıkta önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu nedenle yöre ahalisinin sorunlarına bir yaklaşım içerisinde bu araştırma konusu belirlenmiştir. Çalışmayı planlarken gerek atıkların ve gerekse köpek dışkılarındaki oocistlerin moleküler yolla da incelenmesi düşünülüyse de gerekli proje desteği sağlanamadığından bunlar yapılamamıştır. Bununla birlikte bu araştırmadan Kars ilinde neosporiosis epidemiyolojisine yönelik önemli bilgiler elde edildiğini, bazı önemli risk faktörlerinin belirlendiğini düşünmekteyiz.

Bu araştırmanın planlanması ve yürütülmesi sırasında beni yönlendiren, bilimsel araştırma ve akademik terbiye kazandıran, çalışmamın her aşamasında titizlikle takip eden ve desteklerini esirgemeyen doktora danışman hocam sayın Doç. Dr. Atila AKÇA'ya ve gerek çalışmam esnasında ve gerekse yazım sırasından bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Mükremin Özkan ARSLAN'a çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmamda IFA testini yapmak için yardımlarını benden esirgemeyen Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğüne bağlı Parazitoloji Laboratuvar Şefi sayın Dr. Cahit BABÜR'e ve Doç. Dr. Selçuk KILIÇ'a çok teşekkür ederim.

Parazitoloji Anabilim Dalı sayın öğretim üye ve yardımcıları Prof. Dr. Yunus GICIK, Prof. Dr. Zati VATANSEVER, Doç. Dr. Murat KARA, Doç. Dr. Barış SARI ve Araş. Gör. G. Taşkın TAŞCI'ya teşekkür ederim.

Saha çalışmalarında yardımlarını gördüğüm hayvan sağlığı teknikeri Tefvik ÇİFTÇİ'ye çok teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında manevi desteğini ve yardımlarını gördüğüm Tarım il Müdürlüğünden Ziraat mühendisi Ayhan ERGİNBAŞ ve çalışma arkadaşlarına teşekkür ederim.

Ayrıca doktora eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen, yanı başımdan hiç ayrılmayan, büyük güç kaynağım aileme ve canım oğlum Yağız Alperen BAYRAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma Kafkas Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Komisyonu'nca desteklenmiştir. (Proje No: 2008- VF- 07)

## 1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

Kars ili ve çevresi, sığır yetiştiriciliği bakımından Türkiye'nin en önemli hayvancılık potansiyeline sahip yörelerinden birisidir. Yöre insanının en önemli geçim kaynağı hayvancılıktır. Yörede mevcut ve nispeten verimsiz olan sığır ırkları, yüksek verimli sığır ırklarının ithalat yoluyla getirilmesiyle veya bunların yeni nesilleriyle giderek islah edilmektedir. Buzağı geliri, halen yöre köylüsünün en önemli ekonomik girdilerinden biri olmaya devam etmektedir. Bu bakımdan abortlar yöre hayvancılığı bakımından önemli bir problemdir. Yöre sığırlarındaki yıllık atık insidansı ve bunun yöre hayvancılık ekonomisine maliyeti henüz bilimsel olarak ortaya konulmamış, fakat bu kaybın çok yüksek olduğu düşünülmektedir. Yöredeki sığır abortlarını araştıran sınırlı sayıdaki çalışma sonuçlarına göre, atıkların en önemli nedenlerinin sırasıyla brucellosis, leptospirosis (103) ve Chlamydoiphila'lardan ileri gelen abortlar olduğu bilinmektedir (113). Bununla birlikte atıkların önemli bir kısmının sebepleri henüz bilinmemektedir. Dünya çapında sığır ve köpeklerin ciddi bir hastalığı olarak bilinen neosporosis, sığır abortlarının önemli nedenleri arasında yer almaktadır. **Akça ve ark.** (4) tarafından yapılan araştırmada neosporosis'in yöreye sığır ithalatıyla sokulmuş olabileceği bildirilmiştir.

Bu çalışma, Kars yöresinde sığır ve köpeklerde neosporosis'in yaygınlığının belirlenmesi, gruplar arası çalışma yaparak enfeksiyonun yöreye ithal sığırlarla girip girmediğinin ortaya konulması ve diğer epidemiyolojik bilgilerin elde edilmesi için yapılmıştır.

### 1.1. *Neospora caninum*'un Sistematikteki Yeri ve Tarihçesi

Dünya çapında köpek ve sığırların ciddi bir hastalığı olarak ortaya çıkan ve bir protozoon olan *Neospora* etkeninin sistematikteki yeri şöyledir (96,123,226).

Alem: Protista

Altalem: Protozoa

Şube: Apicomplexa

Altşube: Sporozoa

Sınıf: Sporozoea

Altsınıf: Coccidia

Süperdizi (Üsttakım): Eucoccidea

Dizi (Takım): Eucoccidiida

Alttakım: Eimeriina

Aile: Sarcocystidae

Cins: *Neospora*

Tür: *Neospora caninum*, *Neospora hughesi*

Neosporosis, *Neospora caninum* ve *Neospora hughesi* parazitlerinin sebep olduğu bir hastalıktır. İlk defa 1984 yılında Norveç'te ensefalitisli ve myozitisli köpeklerde *Toxoplasma* benzeri parazit olarak bulunmuş, fakat tanımlanamamıştır (38). 1948–1987 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'nin, Boston şehrinde bulunan Angell Memorial Hayvan Hastanesi'nde **Dubey ve ark.** (76,83) toxoplasmosis olarak teşhis edilen vakalardan elde ettikleri histolojik kesitleri tekrar incelemişler ve etkenin immunolojik yapısının *T. gondii*'den farklı olduğunu tespit etmişlerdir (76,83). Daha sonra 1988 yılında doku kültüründen izole edilen bu yeni cins ve bu cinse ait türe *Neospora caninum* ismi verilmiştir (70,71,76).



Neosporosisin tanımlandığı ilk yıllarda serolojik teşhis için indirek floresan antikor test (IFAT) (81), daha sonra dokularda paraziti teşhis etmek için immunohistokimyasal test geliştirilmiştir (151). Neosporosis 1989 yılında Meksika'da sütçül sığırlarda abort nedeni olarak tespit edilirken (217), sığır, koyun, kedi ve köpeklerde ise transplasental bulaşmaya neden olduğu belirlenmiştir (79,80,84,85,89).

*Neospora* enfeksiyonları Amerika Birleşik Devletleri'nin Kaliforniya eyaletinde sığır abortlarının büyük bir sebebi olarak tanınmıştır (12). Barr ve ark. (28) 1993 yılında yaptıkları bir çalışmada, sığırlardan izole ettikleri taşıyıcılarla deneysel olarak sığırların enfekte etmişlerdir. Ardından sığırlarda ve köpeklerde neosporosisin teşhisi için serolojik olarak ELISA testi geliştirilmiştir (186). Amerika Birleşik Devletleri'nin Kaliforniya eyaletinde 1996 yılında bir attan izole edilen *Neospora*'nın, sığır ve köpek izolatlarından farklı moleküler yapı gösterdiği anlaşılmış ve bulunan bu yeni türe *Neospora hughesi* ismi verilmiştir (162). Sığırlarda 1997 yılında vertikal bulaşma tanımlanırken (187), 1998 yılında ise evcil köpeklerin *N. caninum* için sonkonak olduğu tespit edilmiştir (163). Bunun dışında koyotaların (Kır kurdu) (*Canis latrans*), enfekte arakonakların dokularını yedikten sonra ookist dışarı attıklarından dolayı bu hayvanların da parazitin biyolojisinde sonkonak olarak görev yaptıkları belirlenmiştir (112).

## 1.2. Morfoloji

Zorunlu hücre içi paraziti olan ve heteroksen gelişen *Neospora caninum*'un üç enfektif evresi vardır. Bunlar; trofozoit (taşıyıcı, endozoit), doku kistleri (bradizoit, kistozoit) ve ookist (sporozoit) formlarıdır. Bunlardan taşıyıcı ve doku kistleri arakonaklarda olup her ikisi de hücre içi gelişim gösterirler (76,87).

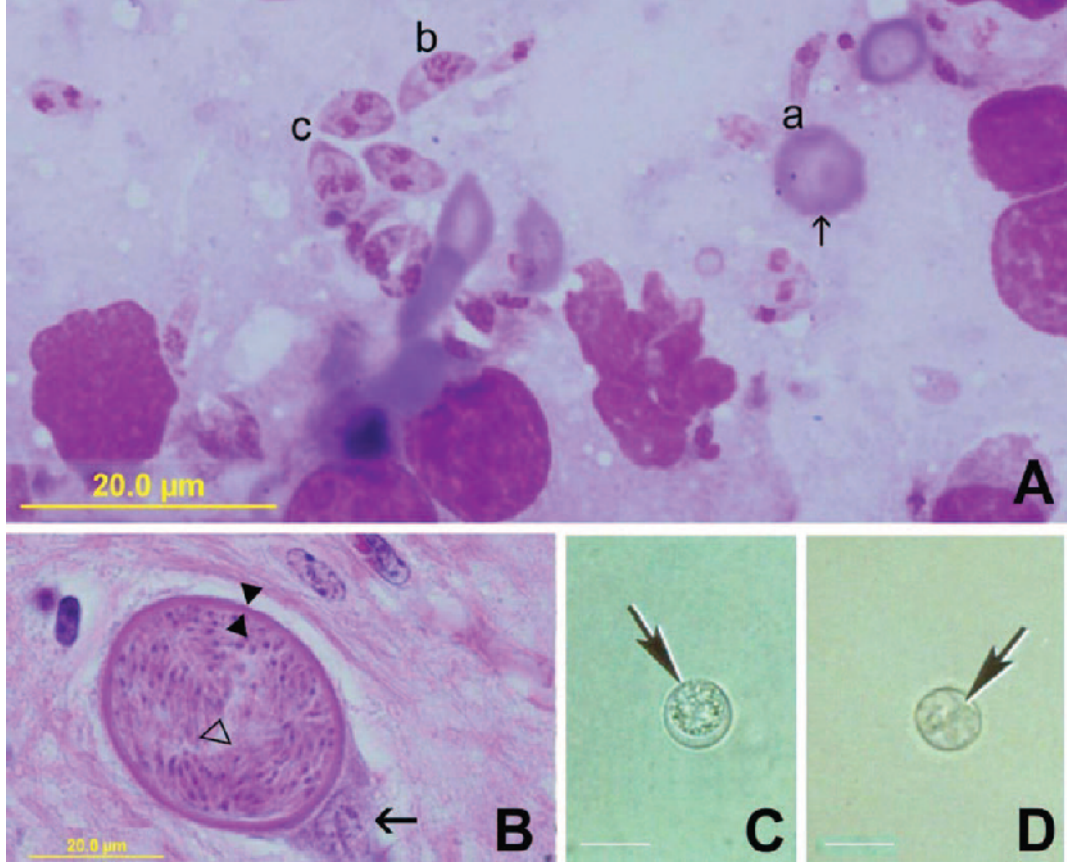
Taşıyıcı formu beyin, omurilik, plasenta ve fötüs başta olmak üzere vücudun birçok organ ve dokularından izole edilmiştir. Taşıyıcılara bilhassa makrofajlarda,

polimorf çekirdekli lökositlerde, sinir hücrelerinde ve değişik birçok hücrelerde rastlanılmaktadır. Taşizoitler Giemsa ve Wright boylarıyla boyanmış preparatlarda 3-7 x 1-5 µm boyutlarında oval, yarım ay veya küresel şekilde olup, konak hücre sitoplazması içerisinde dağılmış halde görülür (Şekil 1-A). Bu formlar endodiyogeni yoluyla hızla çoğalır (74). Taşizoitlerin iç yapısında hücre çeperi, mikronem, konoid, 8-12 anterior ve 4-6 posterior roptri, nukleus, nukleus zarı, endoplazmik retikulum, golgi aygıtı ve mitokondriyumlar bulunur (136).

Doku kistleri, arakonakçının merkezi sinir sistemi (MSS) ve diğer sinirsel dokularda, daha ender olarak da göz kaslarında bulunup, çoğunlukla yuvarlak veya oval yapıda olup, çapı 107 µm'ye kadar çıkabilmektedir. Doku kistinin duvarı 4 µm kalınlığında ve 2 tabakadan oluşur. Bu özelliği ile *T. gondii* doku kistlerinden farklılık gösterir. Bunlardan ince primer yapıdaki kist duvarı birinci tabakayı, kalın granüler duvar da ikinci tabaka olan dış tabakayı oluşturur (74). Kist içerisinde hilal şeklinde 7-8 x 2 µm boyutlarında yaklaşık olarak 50 ile 200 adet yavaş hızla çoğalan bradizoitler bulunmaktadır (Şekil 1-B), (72). Bradizoitlerde, taşizoit formunda bulunan organellere sahiptir. *Neospora caninum* bradizoitleri, diğer coccidia sınıf altında bulunan protozoonların bradizoitlerinden, mikropor içermemesiyle ayrılmaktadır (136). Doku kistleri Periodik Asit Schiff (PAS) boyası, Wright-Giemsa ve İmmunoperoksidaz boyları ile çok iyi boyanmaktadır. Bunlar 4 °C'de 2 hafta kadar canlı kalabilir ve -20 °C'de bir günde ölürlür (74). Canlılarda ise doku kistlerinin bir yıl kadar canlı kaldığı kaydedilmiştir (154).

Biyolojik gelişmenin seksüel (eşeyli) evresi sonucu oluşan ookistler, 11,7 x 11,3 µm (10,6–12,4 x 10,6–12,0 µm) büyüklüğünde sporlanmamış olarak köpeklerin dışkılarıyla dış ortama atılırlar. Yuvarlak ve küresel ookistlerin duvarı düz, renksiz ve 0,6-0,8 µm kalınlığındadır. Genellikle tek tabakalı gibi görünmesine rağmen birden fazla tabaka şeklinde de olabilmektedir. Ookist duvarında mikropil rastlanmamaktadır. Ookist içerisinde ookist kalıntısı bulunmamaktadır. *Neospora caninum* ookistleri 24 saat içinde konak dışında sporlanırlar (Şekil 1-C,D). Sporogoni döneminden sonra her ookist içinde iki sporokist (8,4 x 6,1 µm), her

sporokist içinde de yarım ay şeklinde dört adet sporozoit meydana gelir. Sporozoitler elipsoidal şekilde ve 6,5 x 2,0 µm boyutlarında olup, stieda cisimciği yoktur (74,157).



**Şekil 1.1 -. *Neospora caninum*'un gelişme evreleri (93)**

- A)** Bölünme safhasına bağlı olarak değişik boyutlarda taşızoitler (Giemsa),
- B)** Doku kisti (hematoxylin-eosin),
- C)** Sporlanmamış ookist (Boyanmamış- Bar, 10 µm),
- D)** Sporlanmış ookist (Boyanmamış- Bar, 10 µm).

### 1.3. Biyolojik Gelişme

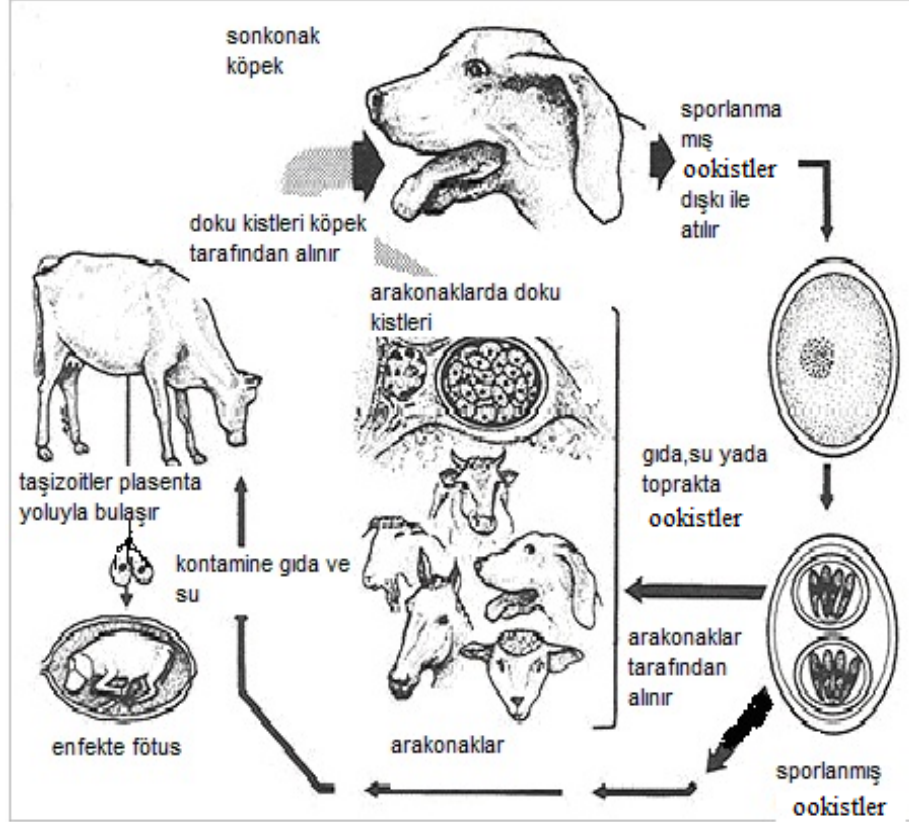
*Neospora caninum*'un yaşam çemberi, yapılan araştırmalarla aydınlatılmış, evcil köpek (*Canis familiaris*) (163) ve koyotanın (*Canis latrans*), ookist çıkaran son konaklar oldukları anlaşılmıştır (112). Arakonakları ise köpek dâhil birçok evcil ve

yabani hayvanlar olup, doğal olarak sığır, koyun, keçi, geyik ve atlar da enfekte bulunmuştur (70,108,163). Ayrıca kırmızı tilki, deve, koyota, manda ve kedigillerde de *N. caninum*'a karşı antikör varlığı tespit edilirken (108,155), fare, domuz, rat, gerbil, tilki ve maymunların ise deneysel olarak enfekte olabildikleri ortaya konulmuştur (71).

*Neospora caninum* Apicomplexa şubesinde bulunan diğer protozoonlara benzer bir biyolojik gelişme (Şekil 1.2) göstermektedir (11,72,220). Bu protozoonun enfektif evreleri sporlanmış ookistler, doku kistleri ve taşızoitlerdir. Ookist içinde enfektif form sporozoitler, doku kisti içindeki enfektif form ise bradizoitlerdir. Bunlardan iki eşeysiz evre olan taşızoitler ve bradizoitler köpek dâhil, enfekte olabilen bütün canlılarda yani arakonakta intrasellüler olarak gelişirken, ookistler ise sonkonak olan köpeklerin incebağırsak epitel hücrelerinin içinde eşeyli olarak geliştikten sonra dışkı ile dışarı atılırlar. Ookist oluşum öncesi köpeklerin bağırsaklarında ki entero-epitelial gelişme şekli bilinmemekle (74,77) beraber *N. caninum*'un biyolojik gelişiminde bilinmeyen birçok yön vardır. Ookistlerin atılma sıklığı, tabiatla canlı kalma süresi, evcil köpekler ve koyotalardan başka diğer köpekgillerin sonkonak olarak görev yapıp yapmadıkları henüz tam olarak bilinmemektedir (72,117,220). Ayrıca kedilerin de *N. caninum* için uygun bir sonkonak olmadığı anlaşılmıştır (237). *Neospora caninum* ookistleri morfolojik olarak kedi dışkısında bulunan *T. gondii* ve *Hammondia hammondi* ookistlerine ve köpek dışkısında bulunan *H. heydorni* ookistlerine benzemektedir (71,74,167).

Arakonaklar tarafından enfektif formlar ağız yoluyla alındıktan sonra bağırsakta serbest kalan sporozoitler (veya bradizoit ve taşızoitler) bağırsak mukozasından geçerek önce mezenterial lenf yumrularına ve oradan da kan ve lenf yoluyla organlara gider (105). Bu organlarda değişik hücrelerin içinde endodiyogeni yoluyla hızlı bir biçimde ikiye bölünerek çoğalır ve çok sayıda taşızoit formları meydana gelir. Enfeksiyonun bu akut döneminde enfekte hücrelerin parçalanması ile taşızoitler yeni hücrelere girerler. Bu sırada taşızoitler, bradizoit (=kistozoit) formuna dönüşürler. Bu form da endodiyogeni yoluyla yavaş bir hızla çoğalarak doku

kistlerini oluşturur. Doku kistlerine arakonağın sinirsel dokularında (beyin, spinal cord ve retina) genellikle rastlanıldığı (154,163,237), kalp, iskelet kasları, karaciğer, plasenta ve böbreklerde ise nadiren görüldüğü bildirilmiştir (12,23,240).



Şekil 1.2 - *Neospora caninum*'un biyolojik gelişmesi (72).

## 1.4. Klinik ve Patolojik Bulgular

### 1.4.1. Klinik Bulgular

*Neospora caninum* hem süt hem de et sığırların da konjenital enfeksiyonlara ve abortlara yol açmaktadır. Sığırlarda *Neospora*'ya bağlı abortlar gebeliğin 3. ayından itibaren herhangi bir dönemde meydana gelmekle beraber daha çok gebeliğin 5. ve 7. ayları arasında görülmektedir. Gebeliğin 3. ayından önce abort meydana gelmez. Öyle ki gebeliğin bu safhasındaki *Neospora*'nın rolü

bilinmemektedir (12,23). Gebeliğin erken dönemlerinde yaklaşık olarak 3. ayında enfekte olan fötuslar, muhtemelen uterusda ölebilir veya rezorbe, mumifiye, otoliz olabilir yada ölü doğabilir. Erken doğan buzağular klinik belirtiler gösterebilir ya da hiçbir belirti göstermez, fakat kronik olarak *N. caninum* enfeksiyonunu taşıyabilirler (11,71,72,75).

Gebe olmayan yetişkin sığırlarda spesifik bir klinik belirti görülmemiştir. Klinik belirtilerin yalnızca iki aylıktan daha küçük buzağularda görüldüğü bildirilmiştir (71,72). Enfekte buzağularda; ön veya arka bacaklarında ya da her ikisinde bükülme veya gerilmeler, ayrıca nörolojik muayenelerde ataksi, bilinç kaybı, pateller refleksde azalma, yürürken ve dururken dengeyi sağlayamama, normalin altında doğum ağırlığı, ekzofthalmi veya gözlerde asimetric görünüş bulunabilir. Neosporosis bazen hidrocephalus ve medulla spinaliste daralma gibi doğum anomalilerine de sebep olabilmektedir (72,75,169,188).

İneklerde gözlenen tek klinik belirti aborttur. Abortlu fötuslardaki lezyonlar sadece histolojik muayenede görülebilir. Vakaların %85'inden fazlasında etken MSS'nde lokalize olmakta kalp, iskelet kası, karaciğer ve böbrekler ise daha az etkilenmektedir (199).

*Neospora caninum* antikorunu taşıyan yani seropozitif ineklerde, seronegatif ineklere göre daha fazla abortlar gözlendiği bildirilmiştir (17,65,71,119,222). Ayrıca seropozitif ineklerin doğurduğu enfekte buzağuların yaklaşık %95'i klinik olarak normal bulunmuştur. Annenin yaşı, laktasyon sayısı ve abortun geçmişi genellikle konjenital enfeksiyon oranını etkilemez (72).

Köpekler her yaşta neosporosisle enfekte olabilirler. Klinik neosporosis vakalarının çoğu konjenital olarak enfekte olan 4 aylıktan küçük gençlerde rapor edilmiştir (19,20,21,61,197). Hastalık lokal veya genel olup, deri dâhil hemen hemen bütün organları içerebilir. Özellikle genç köpeklerde neosporosis lokal seyirli olup,

en belirgin klinik belirtisi arka bacaklarda paraliz ve bunu takiben ilerleyen bir felç tablosu, omurilik anomalileri, boyun ağrıları ve disfaji tablosunun geliştiği kaydedilmiştir (78,199). Nörolojik belirtiler ise, MSS'de parazitin bulunduğu yere bağlıdır ve arka bacaklar genellikle ön bacaklara göre daha şiddetli bir şekilde etkilenmekte, sık sık sert hiperekstensiyonlar görülebilmektedir. Diğer fonksiyon bozuklukları ise, yutmada zorluk, çenede felç, kaslarda gevşeklik, atrofi ve hatta myokarditise bağlı olarak kalp yetmezliğinin gelişebildiği bildirilmiştir (20,71,74,134,146).

**Barber ve Trees** (20) yaptıkları çalışmada Avrupa'daki köpeklerde 27 neosporosis vakası tanımlamışlardır. Hastalık, immunohistokimyasal, elektron mikroskobu ve *N. caninum* antikorlarının bulunması ile doğrulandığı gibi klinik belirti gösteren köpeklerde uygulanan tedaviye cevap alınması ile de doğrulanmıştır. Bu vakaların 21'inde kas atrofisi, arka bacaklarda parezis veya ataksi gibi birbirini takip eden klinik belirtiler görülmüştür. Sert hiperekstensiyon ise vakaların yaklaşık olarak yarısında gelişmiştir. Anoreksi ve pireksi nadir gözlenirken, diğer klinik belirtiler ise ön bacaklarda ataksi, tetraparesis ile birlikte baş titremesi ve miyokarditite bağlı ani çökme gözlenmiştir.

Çoğu köpek neosporosisden dolayı ölebilmektedir. Deneysel olarak oluşturulan *N. caninum* enfeksiyonları, köpeklerde uterusu yavru ölümüne veya hastalıklı yavruların doğmasına neden olmaktadır. Hasta olarak doğan yavruların birkaçı ölür, geriye kalanlar ise normal olarak hayatlarına devam ederler (48,78).

## **1.4.2. Patolojik Bulgular**

### **1.4.2.1. Sığırlarda patolojik bulgular**

Patolojik bulgular aynı zamanda teşhiste yararlanılan önemli verilerdir. **Dubey ve ark.** (75) tarafından çeşitli dokularda bulunan tipik lezyonlar detaylı bir

şekilde derlenmiştir. Neosporosis ile ilgili patolojik bulgular anneden ziyade atık fötüs ve neonatal zayıf doğmuş buzağlarda görülmektedir (79).

Enfekte fötüsler, sık sık otoliz ve mumifiye olmakla birlikte makro-patolojik lezyonlar nadirdir. Lezyonlar, kalp, iskelet kası ve beyinde bulunabilir. Fötüsün kardiak ve iskelet kasında soluk beyaz renkli odaklar ile beyinde çok küçük soluk koyu renkli (gri) odaklar görülebilir. Rengi bozulmuş fokal alanlar plasental kotiledonlarda bulunabilir (75). Abortlu fötüslerde mikroskopik lezyonlar ise çoğunlukla beyin, medulla spinalis ve kalpte görülür. Bunların yanı sıra karaciğer, akciğer, iskelet kasları ve böbreklerde de lezyonlara rastlanılabilir. Kalp genişlemiş, karkas ödemlidir (12,23,199). Histopatolojik olarak abortlu inek fötüsünde multifokal nonsupuratif ensefalitis, meningitis ve myokarditis görülür. Bütün bu bulgular sığır neosporosisi için karakteristik olarak kabul edilebilir. Bunların dışında myozitis, hepatitis, plasentitis ve diğer bazı organlarda bozukluklar gözlenmiştir (79,169,224,226,227). Nitekim Kaliforniya'da 82 fötüsde yapılan bir çalışmada (23), %100'ünde ensefalitis, %80'inde adrenalitis, %72'sinde myozitis, %66'sında nefritis, %62'sinde hepatitis, %53'ünde plasentitis, %44'ünde pnömoni görülürken, *N. caninum* protozoonu fötüslerin %89'unda gözlemlendiği bildirilmiştir (23,26).

Sinir sisteminde lezyonlar hem medulla spinalisde hemde beyinde bulunmaktadır ve multifokal nonsupuratif infiltrasyon ile karakterize olmuş nonsupuratif ensefalitis içermektedir. Nonsupuratif ensefalitis, ortada nekrotik odak ve etrafında da neuroglia hücreleri ile mononükleer hücrelerden oluşur. Lezyonlu bölgelerde taşıyıcılara de rastlamak mümkündür (25,75;79,224).

Myokardiyal lezyonlar ciddidir, fakat otoliz sonucu maskelenir. Tipik olarak myokardiyal lezyonlar, minimal nekrozis ile mononükleer hücrelerin fokal infiltrasyonundan oluşmaktadır. Hepatik lezyonlar, hepatosellüler nekrozis ile birlikte intrasinusoidal fibrin ve trombinin değişken odak ve mononükleer hücrelerin periportal infiltrasyonundan oluşmaktadır. Periportal hepatitis ve multifokal hepatosellüler nekrozis endemik abortlara oranla epidemik abortlarda daha çok



şiddetlidir (23,79,240). **Collantes-Fernandez ve ark.** (59), gebeliğin farklı safhalarında epidemik ve endemik abortlar sonucu oluşan sığır fötüslerinde lezyonların şiddeti ve parazitin yoğunluğunu karşılaştırmışlardır. Beyin, kalp, akciğer, karaciğer ve böbrekteki lezyonlar ve parazit yoğunluğunun endemik abortlu fötüslere nazaran epidemik abortlu fötüslerde daha yüksek olduğu sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar, son gebelik periyoduna nazaran birinci ve ikinci gebelik periyodu ile ilgili atıklı sığır fötüslerinde, lezyonlar ve parazit yoğunluğunu PZR ile daha yüksek tespit etmişlerdir (59).

Abort olmuş fötüsa ait plasenta kotiledonlarında *N. caninum* ile ilgili fokal nekrosis ve nonsuppuratif inflamasyonlar görülmüş, yalnız nekrotik odaklarda protozoona ait kistlere rastlanmamıştır (151,224). Deneysel enfeksiyonlarda ise plasentada çok ciddi lezyonların oluştuğu bildirilmiştir (14,15,28,75,110,132).

Konjenital olarak enfekte buzağuların çok az bir kısmı klinik belirti göstermektedir. Klinik belirti gösteren hasta buzağılarda bile histolojik olarak *N. caninum*'a rastlamak güçtür. Bu konuda yapılan bir çalışmada (67), nörolojik bulguları olan ve prekolostral *N. caninum* antikoru almış olan altı buzağıdan sadece bir tanesinin histolojik kesitlerinde *N. caninum* bulunduğu belirtilmiştir (67). Konjenital olarak enfekte buzağuların nekropsilerinin makroskopik incelenmesinde sırt omurlarında yumuşama, deviasyon ve daralma gözlenirken, mikroskopik incelenmesinde ise nonsuppuratif ensefalomyelitis tablosu görülür. Ensefalomyelitis, canlı olarak doğmuş fakat klinik olarak etkilenmiş ya da doğumdan kısa bir süre sonra klinik hastalık gelişen iki haftalık buzağılarda en baskın olan lezyondur (11,26,87,92).

**Sawada ve ark.** (205) tarafından yapılan çalışmada, *N. caninum*'u izole ettikleri yetişkin bir inekde gliyozis, fokal myozitis ve myokarditis, karaciğer ve böbreğinde de mononükleer hücre infiltrasyonu bulunduğunu bildirmişlerdir. *Neospora caninum*'u izole ettikleri 8 aylık buzağıda da ensefalitis gözlenmezken, fokal myokarditis rapor edilmiştir (101).

### 1.4.2.2. Köpeklerde patolojik bulgular

*Neospora caninum* enfeksiyonuna yakalanmış köpeklerde, karaciğer vücut ağırlığının %5-6'sı kadar büyümüş ve soluk sarı renktedir. Hepatositlerde nekroz vardır ve %25'inden fazlası yıkımlanmıştır (72). Akciğerler konjesyonedir, bazen diffuz bir pneumoni tablosu şekillenir. Myokarda hücre infiltrasyonları ile birlikte kalp kası hücrelerinin içerisinde taşızoitlere rastlanabilir. Şiddetli nonsuppuratif ve nekrotik bir meningoensefalomyelitis, ayrıca vaskulitle birlikte beyin, beyincik ve medulla spinaliste kan damarlarının etrafında tek tek veya yığınlar halinde taşızoitlerin görülmesi hastalık için önemli histopatolojik bulgulardır (78). Parazitin taşızoit formu ile bradizoit formunu birbirinden ayırmak için 4-6 µ kalınlığında kesilmiş kesitlerin PAS (Periodic Acid Schiff) ile boyanması gerekir. Taşızoitler PAS ile boyanmazken bradizoitler boyanmaktadır (74,151).

Özellikle kalp kası, özafagus, triseps brachi, temporal kaslar ve arka bacak kaslarında nekroz ve hemoraji ile birlikte granulomatöz bir miyozitis ve buralarda *N. caninum* taşızoitleri görülebilir. Ayrıca lezyonlu deri bölgesinin epitelyum hücrelerinde ve makrofajlarda çok sayıda taşızoitlerin görüldüğü de bildirilmiştir (72).

## 1.5. Konakta İmmun Yanıt

### 1.5.1. Humoral İmmün Yanıt

Üzerinde deneysel çalışmalar yapılan konak türlerinde, *N. caninum* taşızoitlerinin inokülasyonunu takip eden 2. haftada parazite karşı IgG antikorları gelişmeye başlamış ve 3. haftada serumda en yüksek titreye ulaştığı bildirilmiştir (88). İneklerde humoral immün yanıtı değerlendiren çalışmalarda, karışık yanıtı

birkaç vaka veya birisinin baskın olduğu vakalarda hem IgG1 hemde IgG2'nin üretildiği ortaya çıkarılmıştır (14,65).

Spesifik olarak ineklerde post enfeksiyonun 21. gününde ELISA'daki optik dansite oranı (OD) 0,750'den daha büyük ve IFAT titresi 1/600 ile 3 hafta içinde belirlenebilen bir immün yanıt gelişir. Post enfeksiyonun 3. ayında, antikorlar en yüksek seviyesindedir. *Neospora caninum*'la doğal olarak enfekte abortlu ineklerden alınan örneklerde, IFA testi ile 1/1,600'den 1/25,000 veya daha yüksek antikor titresi aralığındadır (90). Gebeliğin son evresinde (6 ay sonrası) mevcut lezyonlar ve sığır fetal sıvılarındaki antikor titresi arasında iyi bir korelasyon vardır. Bu korelasyon, gebeliğin son yarısında antijenlere cevap olarak fötüsün antikor oluşturma yeteğini yansıtır (24).

Devamlı abort yapan ineklerin *N. caninum*'la enfekte fötuslarıyla yapılan çalışmalarda maternal *N. caninum* antikorlarının tekbaşına fötüsü korumaya yetmediği anlaşılmıştır (13,25). Bununla birlikte **Paré ve ark.** (187) ve **Piorgili-Fioretti ve ark.** (194), gebeliğin 3. döneminde yüksek antikor seviyeli seropozitif ineklerde, bu dönemde düşük antikor seviyeli ineklere oranla daha az abort yapma olasılığı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bu çalışmalar ortaya çıkarmıştır ki, inekler gebelik süresince enfekte olurlarsa, fötüs mutlaka enfekte olmayabilir. Bu sonuçlar, gebelik süresince enfeksiyona yakalanma, abort oluşturmak veya konjenital enfeksiyon için gerekli olmadığını göstermiş ve maternal immün yanıtın abort yapma ve konjenital enfeksiyonu etkilediğini ileri sürmüştür. Üstelik fetal immün yanıt, fötüsde yeterli bağışık olduğu zaman, gebeliğin 3. dönemi süresince abort olma riskinde azalmaya neden olabilir (179,194). Şayet hayvanlar gebe olmadan önce *N. caninum* ile doğal olarak enfekte olurlarsa, onlarda aborta ve fötüsün konjenital enfeksiyonuna karşı humoral bir bağışıklık gelişebilir (132). Bazı *N. caninum* antikorları yönünden seropozitif olan sığırlarda hiç abort görülmemesi, bu olayla açıklanmaktadır.

### 1.5.2. Hücresel İmmün Yanıt

*Neospora caninum*, hücre içi bir parazit olduğundan dolayı, konak savunması çoğunlukla hücresel immünite aracılığı ile olmaktadır. Hem doğal hemde deneysel olarak taşıyıcı veya ookistlerle enfekte edilmiş sığırlarda güçlü bir antijen spesifik IFN gamma üretimi ve hücre proliferasyon varlığı görülmüştür. (14,15,66). Bazı çalışmalarda enfeksiyondan çok kısa süre sonra *N. caninum*'un önemli miktarda IFN-gamma ve IL-12'yi uyarma yeteneğinde olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu gözlemlerde, *N. caninum*'un enfekte konaklarda kısmende olsa IL-12 ve IFN-gamma aracılı T hücre immün yanıtı (Th-1 sitokinleri) uyardığı gösterilmiştir (9,139). Ayrıca enfekte inekler, enfekte olmayan gebe hayvanlarla karşılaştırıldığında lenfosit alt populasyonlarında (Th-1, Th-2) artışlar görülmüştür (132). Artan T lenfosit seviyesi ayrıca enfekte fötuslarda da kaydedilmiştir (9).

### 1.6. Teşhis

*Neospora caninum* enfeksiyonlarının teşhisinde, klinik belirtiler ve patolojik bulgulardan yararlanılmaktadır. Neosporiosiste klinik belirtiler, diğer birçok hastalıkla benzer olduğundan genellikle hastalığı, teşhis için tek başına yeterli değildir. Bundan dolayı klinik belirtilere bakılarak kesin tanıya gitmek hemen hemen olanaksızdır. Abort, MSS bozuklukları ve encephalomyelitis gibi klinik belirtiler her ne kadar neosporiosisi akla getirirse de tanıyı kesinleştirmek için diğer laboratuvar tanı yöntemlerinin de uygulanması gerekir. Bu yöntemler immunohistokimyasal yöntemler (IHC) (151), transmission elektron mikroskopik yöntem, serolojik testler ve moleküler biyolojik yöntemlerdir (92,122,248).

### 1.6.1. Patolojik Lezyonlar

Neosporosisle ilişkili tipik patolojik lezyonlar, ön tanıda kullanılabilecek önemli verilerdir (75). *Neospora caninum* doku kistleri, MSS'de bulunurken (87), *N. caninum*'a ait taşıyıcıların elde edildiği lezyonlar ise çoğunlukla kalp, karaciğer, MSS dokularında ayrıca fötüs ile ölü doğmuş buzağuların genellikle böbrek ve akciğerinde bulunur (92,194). Plesantada bulunan lezyonlar kotiledonlarla sınırlıdır. *Neospora* enfeksiyonlarında bu lezyonlar teşhis için tek başına yeterli değildir. Özellikle *Sarcocystis* gibi diğer parazitlerde benzer lezyonlara sebep olduğu için spesifik antikor ile boyanarak teşhis konulabilir (151).

### 1.6.2. Hematoksilen - Eozinle (HE) Boyama

Abort yapmış bir inekten alınan serumun serolojik yoklaması sonucu görülen pozitif sonuç, hayvanın *N. caninum*'a maruz kaldığını gösterebilir. Ancak gerçekleşen bir abort vakasının neosporosis kaynaklı olduğunu doğrulamak için fötüsün histopatolojik muayenesinin yapılması gereklidir. Neosporosisde teşhis için beyin, kalp, karaciğer, akciğer, plesanta kullanılmakla beraber, fetal beyin enfeksiyondan en çok etkilenen organ olduğundan dolayı en uygun materyaldir. Bununla birlikte teşhiste ne kadar çok doku muayenesi yapılırsa teşhisin doğruluğu o oranda artar. Histopatolojik muayenelerde, alınan dokular %10'luk buffer nötral formalin solüsyonunda tespit edilip, parafin bloklara yerleştirilir. Mikrotomla 5 µm kalınlığında alınan kesitlerde hematoksilen ve eozin (HE) boyama ile parazit teşhis edilir (87,151).

Neosporosisle bağlı gelişen abortların çoğu muhtemelen otoliz olduğundan dolayı bu otoliz olmuş dokularda genellikle çok az sayıda *N. caninum* mevcuttur. İyi korunmuş yani otoliz olmamış fötüslerde bile *N. caninum* sayısı düşük olduğundan rutin HE boyama yöntemiyle taşıyıcıları görmek oldukça güçtür. Çünkü parazitin neden olduğu immün yanıt paraziti öldürür ya da diğer hücrelerle karışır ve ayrımı

güçleşir. Hematoksilen ve Eozin ile boyanmış kesitlerde taşızoitler genelde yuvarlak veya hafif elipsoidal olarak görülmektedir. Konakçının dejenere olan hücrelerinden ayırmak için kesitlerde vesikular çekirdeğin tespiti önemlidir. Nadiren taşızoitler hilal şeklinde görülebilecek biçimde uzunlamasına kesilirler (75). Sığır dokularında *N. caninum* doku kistlerinin çapları 5-50 µm olup, kist duvarının kalınlığı da 1-2,5 µm arasında değişmekte ve kist duvarının kalınlığı doku kistinin büyüklüğünden bağımsızdır. Doku kistlerindeki bradizoitlerde nukleus, terminal olarak lokalize olup, PAS boyasında kırmızı renge boyanır (92). HE boyasının immunohistokimyasal boyama ile birlikte kombine kullanılması daha faydalıdır (230).

### 1.6.3. İmmunohistokimyasal (IHC) Boyama

IHC boyamanın amacı; antijen-antikor reaksiyon yardımı ile çeşitli doku ve hücre komponentlerinin yerleşimlerini (immunohistokimya, immunofloresans) ve sayısal olarak miktarlarını tespit etmektir. Bunun tam olarak ifadesi, işaretlenmiş antikorlar kullanılarak dokudaki antijenlerin buldukları yerde gösterilmesini sağlayan boyama tekniğidir (144). *Neospora caninum* tespitinde bu etkene yönelik spesifik poliklonal ve monoklonal antikorlar kullanılır (56,57). Tavşanlardan elde edilen poliklonal antikorlar tanı amacıyla fareden elde edilen monoklonal antikorlardan daha güvenilir olabileceği düşünülmüştür (92). Çünkü monoklonal ve poliklonal antikorlar kıyaslandıklarında her ikisinin de birbirlerine karşı avantajlı ve dezavantajlı yönleri vardır. Örneğin monoklonal antikorlar daha spesifik olmalarına karşın rutin olarak yapılan immunohistokimyasal boyamalarda reaksiyon verme olasılıkları poliklonal antikorlara nazaran daha azdır (144).

IHC boyama, lezyonlarda *N. caninum*'u göstermek için HE boyamaya göre daha güvenilir bir yöntem (45) olup, aynı zamanda abortların etiyolojisinde en iyi veri olarak değerlendirilmektedir (71). Nitekim *N. caninum*, *T. gondii* ve *Sarcocystis* türleri gibi diğer apikompleksan parazitler ile çok yakın ilişkili olmakla beraber, *T. gondii* ve *S. cruzi*, sığırlardaki protozoal abortların ayırıcı teşhisinde göz önünde

tutulması gereken diğer önemli iki protozoondur. *Sarcocystis cruzi*'nin şizont formları damar endotelindedir ve nadir olarak abortlu fötusun beyinde bulunur. *Neospora caninum* ise genellikle extravasküler dokularda lokalize olur. Ayrıca *S. cruzi* enfeksiyonları ile karşılaştırıldığında *N. caninum*'da olgunlaşmamış şizontlar yoktur. Yapısal bir biçimde *Sarcocystis* merozoitleri rhoptri'lerden yoksundur. Sığır fötuslarında *T. gondii* ile enfeksiyon nadirdir (72,92). Bu akraba parazitler morfolojik olarak HE ile boyanmış kesitlerde ayırt edilemeyebilir. Bundan dolayı parazitin (hem doku kistleri hemde taşızoitleri) identifiye edilmesinde IHC boyama etkili bir metottur (151).

Son yıllarda doku kesitlerindeki *N. caninum*'un identifikasyonunda Avidin-biotin-peroksidaz kompleks (ABPC) immunperoksidaz testi geliştirilmiştir. Bu IHC metotta, avidin-biotin-peroksidaz kompleksi ve antiserum kullanılarak *N. caninum* doku kistleri belirlenerek, *T. gondii* doku kistlerinden ayırte edilir. Doku kesitleri biotin bağlanmış IgG anti- serumla boyanır. ABP kompleksi antikorları bağlar ve kahverengine boyayan 3,3'-diaminobenzidintetrahidroklorid (DAB) veya kırmızıya boyayan 3-amino-9-etilkarbazol (AEC) gibi kromojen kullanılarak boyanır (151). Nitekim **Jardine** (136), 3 köpekten elde ettiği beyin dokusu parçalarında avidin-biotin immunohistokimyasal tekniğini kullanarak bradizoit ve doku kistlerinin varlığını ortaya koymuştur. Yazar bu tekniğin ayırıcı teşhiste oldukça spesifik olduğunu belirtmektedir.

IHC boyama ile *N. caninum* en fazla beyin, kalp ve nadiren plasenta gibi diğer organlarda gösterilmiştir (45). **Wouda ve ark.** (240) tarafından yapılan çalışmada, IHC boyama ile 80 fötusun 71'inin beyinde (%89), 11'inin kalbinde (%14) ve 21'inin karaciğerinde (%26) *N. caninum* tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışma ile epidemik abortlarda endemik abortlardan daha fazla *N. caninum* etkeni gösterilmiştir (240).

#### 1.6.4. Serolojik Yöntemler

*Neospora caninum*'a özgü antikorları görmek için kullanılan serolojik testler tanı için önemli yöntemlerdir (Tablo 1.1). Teşhiste geniş yer tutan serolojik testlerin başında İndirekt Fluoresan Antikor Test (IFAT) (44,149,185), Enzim Linked İmmunosorbent Assay (ELISA) (41,149,185) ve Direkt Aglutinasyon Testi (DAT) (43,185,201) gelmektedir. Western Blot analizi (WB), Rapid Immunochromatographic Test (RIT) de spesifik *N. caninum* antikorlarını ortaya çıkarabilmektedir (78). Tablo 1.2'de geliştirilen çeşitli ticari serolojik tanı kitleri verilmiştir (92).

Serolojik testlerde antikor titreleri ve absorbans değerleri, antijen bileşenlerine, ikincil antikora (konjugata) ve diğer malzemelere bağlıdır. Ayrıca cut-off düzeyleri amaca uygun olarak istenilen sensitivite ve spesifiteye ulaşmak için isteğe bağlı olarak seçilebilir. Bir hayvanın yaşı ve türü dahi cut-off seviyesinin seçimini etkileyebilir. Genel olarak antikor titreleri neosporosise bağlı olarak atık yapmış sığırlarda normal gebelik geçirmiş olanlardan daha yüksektir. Ancak bireysel ineklerdeki antikor titreleri abortun etiolojisini belirleyemez (72).

Serolojik testlerde, abortlu fötusun pleural veya peritoneal vücut boşluğundaki serosanginöz sıvılar, fötal kan ya da abomazum içeriği muayene için kullanılmaktadır. Fötusdan alınan serumda *N. caninum* antikorlarını bulmak enfeksiyonun varlığını gösterebilir; fakat negatif bir sonuç enfeksiyonun var olmadığını söylemek için yeterli değildir. Çünkü fötusta antikor sentezi gebeliğin aşamasına, fötusun enfeksiyona maruz kalma seviyesine ve enfeksiyon ile atığın oluşması arasındaki zamana bağlıdır. Fötal serumunda 1:25'lik düşük bir IFAT titresi *N. caninum* enfeksiyonu için spesifik olarak kabul edilmektedir (72,154). Fötustan alınan kan serumu veya herhangi bir vücut sıvısı serolojik teşhis için kullanılabilmesine rağmen, periton sıvısı, diğer vücut sıvılarından daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir (72). Enfekte ineklerden doğan buzağılarda emzirme öncesi kan serumlarının incelenmesi, konjenital enfeksiyonun teşhisi için önerilmektedir (72).



Serolojik testlerde ayrıca maternal kan serumu ile süt ve kolostrum örneği (168), köpeklerde ise kan serum örneği muayene için kullanılmaktadır (44). Köpeklerde standart altın test olarak IFAT daha çok tercih edilirken, çok sayıda numune ile çalışıldığında, maliyet ve zaman açısından değişik ELISA çeşitleri tercih edilmektedir (44).

**Tablo 1.1 – *N.caninum* ile enfekte sığırlarda antikorları saptamak için geliştirilen serolojik testler (92)**

Test tipi	Kullanılan Antijen ve Açıklama	Kaynak
DAT	Fikse olmuş bütün taşızoit	Hücre kültüründe üretildi (185)
		Farede üretildi (201)
IFAT	Fikse olmuş bütün taşızoit	Havada kurutuldu (60)
		Formaldehitte fikse edildi, havada kurutuldu (46)
		Havada kurutuldu, asetonla fikse edildi (209)
		PBS içerisinde parçalandı, Kinetik ELISA (186)
		PBS ile parçalandı (88)
		Ticari antijen (200)
		Distile su ile parçalandı (178)
ELISA	lizat olmuş bütün taşızoit (İndirekt ELISA)	PBS ile parçalandı, %1 Triton X-100 (238)
		Fiske olmuş bütün taşızoit (İndirekt ELISA) Formaldehitte fikse edildi (235)
		ISCOM antijen (İndirekt ELISA) (40)
		rNcGRA6 ve rNcGRA7 (149)
		rNcGRA7 ve rekombinant subtilisin-benzeri serin proteaz (159)
	Rekombinant antijen (İndirekt ELISA)	rNcSRS2 (176)
		Kısaltılmış rNcSRS1 (128)
		Kısaltılmış rNcSRS2 (2)
		rNcGRA6; artırılmış HPLC (137)
		Natif bir antijen (İndirekt ELISA) NcSRS2 (92)
Antijen-yakalama (İndirekt ELISA)	Antijen yakalama için Poliklonal antiserum (208)	
	Antijen yakalama için Monoklonal antikor (82)	
	monoklonal antikor kullanarak (33)	
Antijen-yakalama (kompetitif inhibisyon ELISA)	poliklonal antikor kullanarak (166)	
	ISCOM'a bağlanmış antijen (43)	
	Lizat olmuş bütün taşızoit (161)	
Avidite ELISA	NcSRS2 (208)	
	İndirgenmiş ve indirgenmemiş bütün taşızoit antijen (37)	
Immunoblot	Avidite Western blot (1)	
	RIT (Rapid immunochrom atographic test)	Rekombinant antijen (RIT) Kısaltılmış rNcSRS1 (150)

**Tablo 1.2 - Ticari kit haline getirilmiş serolojik testler (92).**

Testin Adı	Yöntem	Kullanılan Antijen	Şirket
BIOVET <i>Neospora caninum</i>	İndirekt ELISA	Sonikasyon ile lizat olmuş taşızoit antijeni	BIOVET laboratuvarı, Kanada
CHEKIT <i>Neospora</i> Dr. Bommeli/IDEXX	İndirekt ELISA	Deterjan ile lizat olmuş taşızoit antijeni	IDEXX laboratuvarı, Hollanda
CIVTEST BOVIS <i>NEOSPORA</i>	İndirekt ELISA	Sonikasyon ile lizat olmuş taşızoit antijeni	HIPRA, İspanya
Cypress Diagnostics C.V. <i>Neospora caninum</i>	İndirekt ELISA	Deterjan ile lizat olmuş taşızoit antijeni	Cypress Diagnostics, Belçika
HerdChek IDEXX	İndirekt ELISA	Sonikasyon ile lizat olmuş taşızoit antijeni	IDEXX laboratuvarı, ABD
MAZTAZYME <i>Neospora</i>	İndirekt ELISA	Bütün taşızoit	MAST GROUP, Britanya
<i>Neospora caninum</i> blocking ELISA	Kompetitif ELISA	Bilgi yok	Institut Pourquier, Fransa
P38-ELISA	İndirekt ELISA	Ayrıştırılmış natif yüzey taşızoit antijeni (NcSRS2)	AFOSA GmbH, Almanya
Immunocomb bovine <i>Neospora</i> antibody	DOT-ELISA	Bilgi yok	Biogal, İsrail
SVANOVIR <i>Neospora</i> -Ab ELISA	İndirekt ELISA	ISCOM birleşik antijen	SVANOVA Biotech AB, İsveç
VMRD <i>Neospora caninum</i> CELISA	Kompetitif ELISA	GP65 yüzey taşızoit antijeni	VMRD, ABD
VMRD <i>Neospora caninum</i> FA substrate slide	IFAT	Bütün taşızoit	VMRD, ABD
Vétoquinol- <i>Neospora caninum</i> DAT	DAT	Bütün taşızoit	Vétoquinol, Lure, France

#### 1.6.4.1. İndirekt Floresan Antikor Test (IFAT)

Değişik oranlarda sulandırılmış şüpheli serumlar, önceden lamalar üzerine fikse edilmiş parazitin kendisi veya kesitlerinin üzerine konularak, inkübasyon ve yıkama işleminden sonra test edilir. Test edilen serumlarda antijene karşı gelişen antikorların, floresans ile işaretli konjugat yardımıyla gösterilmesine dayalı bir yöntemdir (184). Test floresans mikroskopunda değerlendirilmekte, genellikle

parazitin çerperinde oluşan yeşil-sarı floresans ışıma pozitifliği göstermektedir. Buna karşın negatif olgularda floresans parlama yoktur ve zemin kırmızımtrak renkte görünmektedir. Bu metod ile yüzey antijenleri değerlendirilebildiği gibi, parazit içindeki antijenlerde değerlendirilebilmektedir. IFA tekniğinden immunoglobulin (IgG, IgM, vb.) alt gruplarının belirlenmesi için yararlanılabilmektedir (184).

**Dubey ve ark.** (81) tarafından ilk defa 1988 yılında enfekte köpeklerden izole edilen ve in vitro hücre kültüründe başarılı bir şekilde üretilen *N. caninum* taşıyıcıları IFA testinde antijen olarak kullanılmıştır. IFA testi konaklarda *N. caninum*'a karşı gelişen antikorların saptanmasında kullanılan ilk serolojik yöntemdir. Günümüzde *N. caninum* IFA testinin gerekli materyalleri, ticari olarak elde edilebilmektedir. (VMRD Inc., Pullman, WA 99163, USA) (33).

Yapısı bozulmamış taşıyıcılar, IFA testinde antijen olarak kullanılmaktadır. Bu test başlıca parazitin hücre yüzeyinde görülen antijenlere yönelik antikorları bulmayı amaçlar. Apikompleksan türlerinde böyle antijenler, hücre içi parçacıklardan daha spesifik yapılar olarak dikkate alınmaktadır (41,185). Farklı konaklarda yapılan enfeksiyon çalışmalarında IFAT ile *N. caninum*'un diğer coccidia türleriyle çok az çapraz reaksiyon gösterdiği bildirilmiştir (88). Bu durum özellikle *T. gondii* ile olan ilişkisinde önemlidir. Bu sebeple IFAT, diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında *N. caninum* için referans test olarak sık sık kullanılmaktadır (44,54).

IFA testinde kullanılan cut-off titresi; konjugat özellikleri, konak türü gibi bir dizi faktöre bağlıdır. IFAT'da seçilen cut-off titreleri nihayi amaca göre de farklılık gösterebilir. Fakat titre genel olarak köpekler için 1:50 ve sığır için 1:160-1:640 düzeyinde ayarlanır ve uygulanır. Laboratuvarlar arasındaki test uygulamalarındaki farklılık IFAT titrelerinin direkt karşılaştırmasını zorlaştırır (44).

Hem köpeklerden hem de sığırlardan izole edilen *N. caninum* taşıyıcıları IFAT’da antijen olarak kullanılmaktadır. Bradizoit ve sporozoitlerin antijen olarak kullanımı üzerine dayanan denemeler henüz mevcut değildir (92). Bu testin doğruluğunu etkileyebilecek izolatlar (suşlar) arasında olası küçük antijenik farklılıklar olduğuna dair henüz bir veri yoktur (44). Ne sığır serumlarının analizi için sığırlardan elde edilen antijen, ne de benzer şekilde köpekte antikorların saptanması için köpekgillerden elde edilen antijen tercih edilir. Yine köpek, tilki, kedi, sığır, koyun, keçi, manda, at, kemirgen ve primat gibi hayvan türlerinde antikor düzeylerini saptamak için IFAT kullanılmıştır (44).

#### **1.6.4.2. Enzim Linked İmmunosorbent Assay (ELISA)**

Enzim İmmun Assay (EIA) olarak da adlandırılan bu yöntem esas olarak, oluşturulan antijen-antikor kompleksine enzim işaretli antiglobülinin (konjugat) ilave edilmesi ve sonra substratın eklenmesi ile eğer antijen yada antikor varsa renk oluşumunun gözlenmesi esasına dayanmaktadır. Substrat enzimin katalize ettiği ve enzime spesifik olan maddedir. ELISA’nın çok duyarlı ve güvenilir olması, kolay uygulanabilir olması, işaretli immün ayaçların uzun süre saklanabilmesi, radioisotop kullanmaması ve enzim işaretleri için kromojenik substrat kullanılarak görülebilir ve okunabilir sonuçlar vermesi gibi özellikler sistemin avantajlı yanlarıdır. Bunun yanında özel cihazlara gereksinim duyması ve pahalı olması ise sistemin kullanımını nispeten sınırlamaktadır (3). Sığırlarda neosporosisin teşhisi için indirekt ELISA ilk defa 1994’de geliştirilmiş ve testin sensitivitesi %88,6, spesifisitesi %96,5 olarak bildirilmiştir (41,186). ELISA tekniği özellikle büyük ölçekli sürüleri taramada kullanışlı ve faydalıdır (44,136,153).

*Neospora caninum* antikorlarını tanımlamak için geliştirilen ELISA tekniğinde fikse olmuş bütün taşıyıcı antijenleri, parçalanmış taşıyıcı antijenleri (suda yada deterjanda-çözülebilir taşıyıcı parçaları), rekombinant antijenleri ve ISCOM (immunostimulating complexes) antijenleri kullanılmıştır

(40,137,149,178,186,235,238). Antijen aramak için de monoklonal ve poliklonal antikorları kullanılmıştır (33,82,166,207).

Neosporosis'de ELISA çeşitlerinden indirekt ELISA, dot-ELISA, avidite-ELISA ve kompetitif ELISA kullanılmıştır. Bu ELISA çeşitlerinden indirekt ELISA, dot-ELISA ve kompetitif ELISA çeşitinin ticari kitleri bulunmaktadır (92).

Antikor aramak için yapılan indirekt ELISA da prensip, bilinen antijenle kaplı mikroplyet çukurlarına, antikor aranan hasta serumu ilave edilerek inkübe edilir. Daha sonra antijen-antikor kompleksinin gösterilebilmesi için, enzim ile işaretli konjugat eklenir. Antikor bağlanmışsa enzimli antiglobulin de bağlanır; daha sonra uygun enzim substratı ilave edilince renk değişimi gözlenir (246).

*Neospora caninum* için kullanılan indirekt ELISA'da abortlu fötustan elde edilmiş lizat olmuş bütün taşıyıcı antijenleri kullanılarak, ilk defa 1994 yılında geliştirilmiş olup, sensitivitesi %88,6, spesifitesi %96,5 olarak rapor edilmiştir (186). Kanada'da *N. caninum* için geliştirilen indirekt ELISA'nın ticari olarak elde edilebilen 2 test kiti IDEXX (IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine, USA) ve Biovet (BIOVET Laboratories, St. Hyacinthe, Quebec) ELISA kitleridir. Örnek/Pozitif kontrol (S/P) oranı IDEXX için 0,45 iken, Biovet ELISA için 0,60 olup, enfekte ve enfekte olmayan sığırlar arasında ayırım yapmak için optimal (en yüksek) cut-off olarak tanımlanmıştır. IDEXX ve Biovet ELISA ticari kitlerini onaylama çalışmasında, enfekte etçil sürülerden katılan 150 serum örneği kullanılarak immunoblotting (altın standart) test ile karşılaştırılmıştır (241). Bu çalışmanın sonuçlarına göre her iki ticari indirekt ELISA kitinde eşit bir biçimde iyi çalıştığı ve performansları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olmadığı bildirilmiştir. İki farklı laboratuardan elde edilen sonuçlar, her iki testinde hem yüksek çoğalabilirlik ve tekrarlama yeteneği hemde büyük uyuma gösterdiği kaydedilmiştir. Çalışmada kullanılan serum örneklerinde Biovet ELISA ticari kitinin sensitivitesi %95,1 iken, spesifitesi %100 olarak belirlenmiş, IDEXX ELISA'nın ise sensitivitesi %97,6 iken, spesifitesi %98,5 olarak bildirilmiştir (241).

Dot-blot ELISA yönteminde, katı faz olarak güçlü protein bağlama özelliğine sahip nitroselüloz veya selüloz asetat membranlar bilinen antijenle önce kaplanır. Antikor varlığı araştırılan hasta serumu ilave edilerek inkübe edilir. Serumda antikor varsa bu antijenlere yapışıp kalır. Daha sonra sırasıyla konjugat ve substrat eklenirken, pozitif örneklerde katı faz üzerinde oluşan renkli noktalar gözle değerlendirilmektedir (246).

Avidite ELISA yöntemi, hastalığın geçirilmiş bir enfeksiyon mu yoksa akut dönemde bir enfeksiyon mu olduğunun ayrımının yapılabilmesine katkıda bulunmak amacıyla hastada oluşmuş olan IgG antikorlarının avidite değerlerini ortaya koyan bir testtir. Antikorların antijenlere olan afinitesi başlangıçta düşükken, ilerleyen hafta ve aylarda artmaktadır. Antijen ve antikor arasındaki bağlar, üre gibi proteinleri denatüre edebilecek maddelere tabi tutulmakta ve bağların gücü denenmektedir. Bağlar ne kadar kuvvetliyse denatüre edici maddelere o kadar çok dayanmakta ve sonuçta yüksek avidite değeri çıkmaktadır. Eğer antijen ve antikor arasındaki bağlar daha yeni oluşmuşsa, denatüre edici ajanlara dayanmamakta, bağlar kopmakta ve düşük avidite değeri çıkmaktadır. Avidite değeri, aynı serum örneğinin üreye tabi tutulması ile tutulmayan arasındaki orandır. Kullanılan yöntemle göre değişmekle birlikte, yüksek avidite değerine sahip olan bir hastanın enfeksiyonu en az 3-6 ay önce aldığı söylenebilir. Yüksek avidite değeri eski bir enfeksiyonun, düşük avidite değeri ise yeni bir enfeksiyonun göstergesi olarak kabul edilirken, düşük aviditeli antikorlar serumda aylarca kalabileceğinden düşük avidite değeri çıkmış bir sonuç her zaman yeni kazanılmış bir enfeksiyon anlamına da gelmez. Bu açıdan bakıldığında yüksek avidite değerine sahip bir sonucun daha değerli olduğu görülmektedir (1,42,230).

IgG avidite-ELISA yöntemi, yaygın araştırmalarda *N. caninum*'un teşhisi için faydalı bir testtir. Bu test, neosporosiste sığırlardaki akut ve kronik enfeksiyonları ayırmak için tasarlanmış olup, aynı zamanda endemik ve epidemik abortları ayırt etmekte ümit verici olarak görülen bir testtir (1,42,72,117). Bu test ile bir *N. caninum*

antijenine IgG antikorlarının bağlanma kuvveti ölçülmektedir. Enfeksiyondan sonra zamanla IgG aviditesi (şiddeti) yükselir; sonuç olarak düşük (<50) avidite akut enfeksiyonu gösterirken, yüksek (>50) avidite ise kronik enfeksiyonu göstermektedir. Bu test henüz ticari olarak geliştirilmemiştir (43,117). Diğer ticari testlerde olduğu gibi bu testinde ticari kit olarak onaylanması için araştırmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmuştur.

Kompetitif ELISA yöntemi, katı faza yapışmış özgül antikorun üzerine antijen aranacak olan materyal eklenir. İnkübasyondan sonra, enzim bağlanmış özgül antijen, takiben substrat eklenir. İncelenen materyalde antijen varsa, katı fazdaki antikora bağlanmıştır, enzimli antijen yapışamayacağı için, yıkama ile uzaklaşır; substrat eklenince renk oluşmaz. Antikor aramak için kullanılan kompetitif ELISA yönteminde prensip ise, katı faza bağlanmış antijenin üzerine önce antikor aranmakta olan hasta serumu, takiben enzimle işaretli özgül antikor ve kromojen substrat eklenir. Hasta serumunda antikor varsa, enzimle işaretli antikora göre daha aktif olduğundan, yarışma sonucu solid fazdaki antijene bağlanmıştır. Enzimli antikor bağlanamayıp yıkama ile uzaklaştığı için substrat eklendiğinde renk oluşmaz (242).

Kompetitif inhibisyon ELISA testin (c-ELISA) (VMRD Laboratories, Pulman, Washington, USA), *T. gondii* ve *S. cruzi* gibi yakın ilişkili akraba apikompleksan protozoonun antijenleri ile reaktif olmadığı gösterilmiştir (33). **Baszler ve ark.** (32) tarafından yapılan bağımsız ticari kompetitif inhibisyon ELISA (c-ELISA) kitinin onaylama çalışmasında, 1:200 serum dilüsyonunda maternal *N. caninum* IFA testi ile *N. caninum* IHC boyama ve fotal histopatolojik muayene gibi altın standart testlerle tanımlanan 184 inek serumu bu ticari ELISA kit ile karşılatırılmıştır. Bu çalışmada testin sensitivitesi %97,6 iken spesifisitesi %98,6 olarak bulunmuştur. Bu ticari ELISA testi *N. caninum*'a karşı antikorları tanımlamak için Kanada'da birçok laboratuarda en iyi seçilen test olarak benimsenmiştir (232). **Capelli ve ark.** (54), köpeklerde *N. caninum* antikorlarını tespit etmek için referans test olan ticari IFAT (IFAT, Fuller®) kitine karşı ticari kompetitif inhibisyon ELISA (c-ELISA) testini, onaylama çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada 618 köpekten

toplanan kan serum örnekleri test edilmiştir. Çalışma sonucu ticari c-ELISA'nın cut-off değeri %30 olarak belirlenirken, köpeklerde testin sensitivitesi %72, spesifitesi %90 olarak bildirilmiştir.

**William ve ark.** (235), sığırlarda *N. caninum* antikorlarını tanımlamak için ELISA geliştirmişlerdir. Formalinle tespit edilmiş *N. caninum* (NC-liverpool) taşıyıcıları (parçalanmaksızın) antijen olarak kullanılmıştır. IFAT ile negatif olan 46 serum örneği, geliştirilen ELISA'nın cut-off seviyesini belirlemek için 1:500 oranında sulandırılarak kullanılmış ve  $O.D_{405}=0.77$  optikal dansite negatif cut-off değeri olarak hesaplanmıştır. İncelenen toplam 104 serum örneğinde IFAT ve ELISA'nın sonuçları karşılaştırılarak iki test arasında %95 oranında bir uyum olduğu belirlenmiştir. ELISA'nın IFAT'a karşı spesifitesi %96 iken sensitivitesi %95 olarak hesaplanmıştır. Deneysel olarak *T. gondii*, *Cryptosporidium parvum*, *Babesia divergens*, *Sarcocystis cruzi*, *Eimeria alabamensis* veya *E. bovis* ile enfekte sığırlardan alınan serumlarla önemli bir çapraz reaksiyon vermediği de belirlenmiştir (235).

#### 1.6.4.3. Direkt Aglutinasyon Testi (DAT)

Direkt Aglutinasyon Testi (DAT), formalinle işlem görmüş fakat bütünlüğü bozulmamış taşıyıcıların spesifik antikorlar ile aglutine olması prensibine dayanır. Modifiye test, sadece IgG antikorlarını tespit eder. Çünkü hem spesifik hemde nonspesifik IgM, merkaptotanol ile muamele edilerek yok edilmektedir. Testin en önemli dezavantajı mikropate çukurlarının içindeki reaksiyonun çıplak gözle görülebilmesi için çok sayıda taşıyıcıya ihtiyaç duyulmasıdır (116).

*Neospora caninum* için iki ayrı grup tarafından 1998 yılında eş zamanlı olarak *T. gondii*'nin teşhisinde kullanılan DAT'a benzer bir yöntem geliştirilmiştir (185,201). **Romand ve ark.** (201), köpekgillerden izole edilen NC-1 taşıyıcı antijenlerini kullanırken, **Packham ve ark.** (185) sığırlardan izole edilen BPM-1



taşızoitlerini antijen olarak kullanmışlardır. Bu ikinci çalışmada (185), 16 farklı hayvan türünden toplanan serum örnekleri IFAT ve geliştirilen DAT ile test edilmiş, DAT'ın IFAT ile benzer bir sensitivite ve spesifisiteye sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca *T. gondii* gibi benzer birçok parazitle enfekte hayvanlardan alınan serum örnekleri test edildiği zaman DAT'ının yüksek derecede *Neospora* yönünden spesifik olduğunu kanıtlamışlardır (185,201). *Neospora caninum* DA testinin uygulanmasının kolay olması, farklı konak türlerinden alınan serum örneklerinin işlenmesinde, testte bir değişiklik yapmaksızın olanak vermesi önemli avantajıdır. Böylece pek çok durumda referans test olarak kullanılan IFA testinin yerine geçmesi mümkündür. Bununla beraber bütün serolojik testlerde olduğu gibi, farklı konak sistemlerinde uygunluğu test edilmelidir. *Neospora caninum* DAT'i ticari kit (Vétoquinol) olarak piyasaya sunulmuştur (44).

**Romand ve ark.** (201), *N. caninum*'a karşı antikorların niceliği ve tanımlanması için değişik hayvan türlerinde hem deneysel hemde doğal enfeksiyonlarda güvenilir görünen DAT'i referans test olan IFAT ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada DAT, diğer serolojik testlerin aksine daha az masraflı, yapılması ve okunması kolay olan, minimum laboratuvar alet, ekipman isteyen bir test olması nedeniyle büyük epidemiyolojik çalışma sahalarında *N. caninum*'un humoral tepkilerinin değerlendirilmesinde uygun olduğu vurgulanmıştır.

**Packham ve ark.** (185) ise, DAT'ı modifiye ederek *Neospora*'nın abortlu sığır fötüsünden elde edilen BPM-1 taşızoitlerini Vero hücrelerine inoküle etmişler ve çoğalan taşızoitleri hücrelerden aldıktan sonra aglütinasyon testinde kullanmışlardır. Bu testte ayrıca sonuçların kolay okunması için Eozin Y boyasını antijene eklemişlerdir.

**Canada ve ark.** (52), sığırlarda DAT için cut-off derecesini 1:40 oranında optimize etmişler, testin sensitivitesi %100 iken spesifisitesini %90,4 olarak saptamışlardır.

#### 1.6.4.4. Western Blot (İmmunoblotting)

İmmunoblotting yada Western blotting adı verilen bu immunokimyasal yöntemler bir membran üzerine sabitleştirilmiş proteinleri tanımlamada kullanılmaktadır. Bu transfer yöntemi “blotting” diye adlandırılır, çünkü elektroforez ile moleküler ağırlıklarına göre jel içinde ayrıştırılan proteinlerin, yine elektroforez yöntemi ile nitroselüloz membran üzerine aktarılır (10).

Western blotting yöntemi parazitoloji alanında proteinlerin belirlenmesi, monoklonal ve poliklonal antikorların özelliklerinin incelenmesi ve parazit antijenlerine karşı oluşturulan antikor yanıtının saptanmasında kullanılmaktadır. Bu teknik, yalancı pozitiflik oranının düşük olması ve enfeksiyon etkeninin seçilmiş proteinine karşı oluşturduğu immun yanıtı belirleyerek hastalığın prognozu hakkında fikir vermesi gibi avantajlara sahiptir. Diğer serolojik testlerden daha üstün olan bu özelliklerine rağmen pahalı ve zaman alıcı bir yöntem olması, rutin olarak kullanımını sınırlamaktadır (247).

**Barta ve Dubey** (29) ile **Bjerkas ve ark.** (37) tarafından neosporosisin teşhisinde immunoblot yöntemi ilk defa kullanılmıştır. Bu yöntem ile 19, 29, 30, 33 ve 37 kDa ağırlığında immunodominant *N. caninum* antijenleri belirlenmiştir. *Neospora caninum* antijenlerinin ileri düzeyde bir indirgenmeye tabi tutulmaksızın kullanılması ilk defa güçlü ve özgül antijenik bantlar oluştuğu (186), buna karşın bir indirgenmeye tabi tutularak daha küçük peptitlere ayrıştırılan antijenlerin ise *T. gondii* ve *Sarcocystis spp.* ile enfekte hayvan serumlarıyla çapraz reaksiyonlar verdiği belirlenmiştir (33).

#### 1.6.4.5. Rapid Immunochromatographic Test (RIT)

Immunochromatographic test (ICT) klinik ve saha çalışmaları için elverişli basit, hızlı bir metoddur. Rekombinant antijenler ELISA'dan daha büyük miktarda antikorları aramak için RIT'inde kullanılmaktadır. **Liao ve ark.** (150), glutathione S-transferaz (GST-NcSAG1t) enzime karşı erimiş *N. caninum* (NcSAG1) rekombinant yüzey antijenlerini kullanarak RIT geliştirmişlerdir. Metod, sığırlarda *N. caninum* antikorları için duyarlı ve özgüdür (150,230).

#### 1.6.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR, PCR)

PZR (PCR, Polymerase Chain Reaction), ilk kez 1983 yılında Kary Mullis tarafından ortaya çıkarılmış ve tek bir nükleik asitin bile belirlenebileceği kadar hassas ve güçlü bir yöntemdir., belirli bir nükleik asit dizisinin, primerler tarafından yönlendirilerek, in vitro şartlarda milyonlarca hatta milyarlarca kopyasının enzimatik olarak çoğaltılması ve görüntülenmesi şeklinde tanımlanmaktadır. Bu yöntemde tek bir gen bölgesinin yanı sıra genin sadece bir bölgesi de çoğaltılabilmektedir. Günümüzde PZR, doku transplantasyonu için doku tipinin belirlenmesi, adli tıp, genetik tiplendirme, kalıtsal hastalıklar, gen klonlaması, hastalıkların tanısı, tohum saflığının belirlenmesi, doğadaki çeşitli canlı türlerinin tanısı, türler arasında polimorfizmin belirlenmesi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. PZR teknolojisi ile aynı zamanda parazitlerin varlığı ve tür ayrımı da yapılabilmektedir (8).

Bu yöntemde, belirlenen nükleik asit kısmının her bir zincirinin 3' ucuna tutunacak ve 5' yönüne uzanacak iki kısa nükleotid dizisi (primer), uzamayı sağlayacak olan DNA polimeraz enzimi, yeni zincirlerin yapısında yer alacak nükleotidler ve reaksiyon için gerekli tuzu içeren tampon solüsyonlarından faydalanılmaktadır. PZR aşamasında DNA'nın çift sarmal yapısını bozup, tek zincir haline getirmek (denatürasyon) için 92- 95 °C, primerlerin hedef bölgelere tutunmaları (annealing, priming) için 37- 72 °C (yaklaşık 50 °C), primerlerin 3'

yönüne doğru uzayarak (ekstensiyon) tutundukları tek zincir DNA'nın karşılığını (komplementer) oluşturmaları için 72 °C ısı gerekmektedir. Bu üç farklı ısının ard arda uygulanmasından oluşan siklusun 25- 45 kez tekrarlanması termal blok (thermocycler) adı verilen cihazla sağlanabilmektedir. PZR, kullanılmaya başlandığından beri sürekli geliştirilen bir teknik olup, daha duyarlı ve güvenilir sonuçlar için modifikasyonlar ortaya konulmaktadır (8).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu, *N. caninum* enfeksiyonunun teşhisinde önemli bir rol oynamaktadır. Pek çok PZR protokolleri abortlu fötüslerin yada diğer arakonakların vücut dokularında *N. caninum* DNA'sını tespit etmek için kullanılmaktadır. Bununla beraber, aynı zamanda amniotik sıvılar (126), serebrospinal sıvı (49,191) ve ookist bulaşmış olan köpek ve koyote dışkıları (31,112,125,232) *N. caninum* DNA'sının varlığı için PZR yoluyla incelenmiştir. Doğal olarak enfekte olmuş olan sığır kanlarında *N. caninum* DNA'sını tespit edebilmek için yapılan başlangıç çabaları başarısız olmuştur (115). Son zamanlarda, kronik olarak enfekte olmuş sığırların kanlarında (97,177), ineklerin sütlerinde (174) ve boğaların döllerinde (50,97) *N. caninum* DNA'sının tespit edilebileceği bildirilmiştir.

**Gondim ve ark.** (111), *N. caninum* ile doğal olarak enfekte beyaz kuyruklu geyiklerin (*Odocoileus virginianus*) beynini yedirdiği 4 köpekten 2'sinin dışkılarıyla ookist çıkardığını saptamışlardır. Köpeklerin birinden toplanan ookistlerin PZR ile *Hammondia heydorni* değil, *N. caninum* olarak tespit etmişlerdir.

Son zamanlarda, moleküler uygulamalar örneklerden sadece *N. caninum* DNA'larını tespit etmek için değil aynı zamanda miktarını belirlemek adına da ilerlemiştir. Bu açıdan Kantitatif PZR, sığır neosporosisin patojenlerini incelemek, aşılardan, tedavi edici ve koruyucu ilaçların aktivitesini ölçmek için anahtar yöntemlerden biri haline gelmiştir (59). Kantitatif PZR aynı zamanda *N. caninum* pozitif boğa döllerindeki paraziti tahmin edebilmek için epidemiyolojik çalışmalarda da kullanılmıştır (50,97) Bu yöntem aynı zamanda gebeliğin değişik safhalarında

atıklı fötusların çeşitli dokularında parazit miktarını tahmin edebilmek için de son zamanlarda kullanılmıştır (59).

*Neospora caninum* DNA'sını tanımlamak için uygulanan PZR tipleri, tek basamak PZR, tek basamak PZR+hibridizasyon, tek basamak PZR+restriksiyon enzim, tek basamak nested PZR, iki basamak nested PZR, iki basamak seminested PZR, tek basamak kantitatif PZR, real-time PZR'dır. Hedef DNA olarak, ard arda dizilmiş rDNA (18S rDNA, 28S rDNA, ITS1) spesifik PZR türlerinin gelişmesi için ümit verici hedeflerdir. Diğer hedeflerden pNc5 geni çok kopyalı bir gen olup, 14-3-3 geni ise tek kopyalı bir gen'dir. Primer olarak ise, COC-1, COC-2; AP1, D; SP4, A; GA1, NF6; NS1, SR1; PN1,PN2; NN1, NN2; NP1, NP2; TIM3, TIM11; F6, 5.8B; PN3, PN4; NS2, NR1, NF1, SR1; Np1, Np2; Np6, Np21; Np6plus, Np21plus; Np4, Np7; Np6, Np7; Np4B, Np21B; Nc5fwd, Nc5rev; Nc13F3, Nc13R2; Nc13F1, Nc13R4 kullanılmıştır (92).

#### 1.6.6. Kültür

Neosporosisin tanısında kültür yönteminin henüz pratik bir önemi yoktur. Hücre kültürü veya farede *N. caninum*'u izole etme denemeleri büyük ölçüde başarısızlıkla sonuçlanmıştır (72,78).

#### 1.7. Tedavi

Bugüne kadar neosporosisin etkili bir ilacı belirlenmemiştir. Bu protozoer enfeksiyonun sağaltımında toxoplasmosis enfeksiyonlarında tavsiye edilen preparatlar kullanılabilir. Kullanılan ilaçlar sadece taşıyıcılara etkilidir. *Neospora* enfeksiyonlarının sağaltımı konusunda in vitro olarak yapılan bir çalışmada; 0,05 µg/ml lasalosid sodyum, 0,05 µg/ml monensin sodyum, 0,01 µg/ml prithrexim, 0,05 µg/ml pirimetamin ve 5,0 µg/ml trimetoprim'in sığırların monosit hücre kültüründen

köken alan hücre içi *N. caninum* taşıyıcılarının gelişmesini önlemede etkili olduğunu belirtilmiştir (151). Aynı çalışmada 10,0 µg/ml amprolium hidroklorid, 200 µg/ml sulfametaksazol ile tedavi edilen kültürler, kontrollerle karşılaştırıldığında da kayda değer bir farkı görülmemiştir (151). Farelerde yapılan deneysel çalışmalarda ise neosporosis enfeksiyonuna karşı sulfadiazine ve amprolium'un etkilerini immunsupressif fareler kullanılarak incelenmiştir. Sonuçta taşıyıcı inokulasyonundan 7 gün sonra verilen bu iki ilacın da neosporosis sağaltımında etkili olmadığı ortaya konulmuştur. Ayrıca inokulasyondan 3 gün sonra suyla birlikte verilen 1 µg/ml veya 5 µg/ml amprolium'un klinik belirtileri şiddetlendirdiği de bu araştırma sonucu ortaya çıkarılmıştır. İnokulasyondan 3 gün sonra verilen 1 µg/ml sulfadiazine ise klinik belirti ve ölümlerin azaltılmasında etkili olabileceği tahmin edilerek, farelere 3 gün suyla sulfadiazine verilmek suretiyle tedavi edilmiştir. Araştırma sonucu 1 µg/ml'lik sulfadiazine farelerde enfeksiyona karşı %90 oranında koruma sağladığı bildirilmiştir (152). Fakat şuana kadar enfekte inekten fötusa parazitin bulaşmasını engelleyecek herhangi bir ilaç bilinmemektedir. Araştırmalar bu alanda devam etmektedir (72).

**Barber ve Trees** (20), yaptıkları çalışmada Avrupa'daki köpeklerde 27 neosporosis vakası teşhis etmişlerdir. Bu köpeklerden alınan serum örneklerinden 20 vakada 1:800 ve üstü titrelerde IFAT ile *N.caninum* antikorunu saptamışlardır. Bu köpeklerden 16 tanesi klindamisin, kuvvetli sülfonamid-pirimetamin gibi uygun anti-protozoal ilaçlarla tedavi edilmiştir. Şiddetli klinik belirtili per akut vakalarda daha az iyileşme görülmesine rağmen, tedavi edildiğinde hastalığın geciktiği gözlenmiştir. Nitekim **Hall ve ark.** (119), köpeklerde neosporosise karşı tedavi olarak trimetoprim, sülfadiazin, pirimetamin ve klindamisin ilaçlarını tek başına veya kombine olarak şiddetli paraliz ve ensefalit gelişmeden önce köpeklere verildiğinde klinik belirtilerin gelişmesini engellediğini bildirilmişlerdir. Tüm bu tedavi çalışmalarına rağmen dişi köpeklerde yavruları enfeksiyondan korumak amacıyla henüz etkili bir tedavinin olmadığı bildirilmektedir (226).

## 1.8. Epidemiyoloji

### 1.8.1. Bulaşma Yolları

*Neospora caninum*'un konaklarına bulaşma yolları halen araştırılan en önemli alanların başında gelmektedir. Sığırlar postnatal veya konjenital olarak enfekte olabilmektedir. Sığırların postnatal enfeksiyonu, son konakların dışkılarıyla atılan ve dış ortamda sporlanan ookistlerle kontamine gıda ve suların oral yolla alınmasıyla olmaktadır. Bu durumda enfekte olan sığır gebe ise transplasental (vertikal) geçiş meydana gelebilmekte veya abort oluşabilmektedir. Buna “*exogenous transplasental bulaşma*” denir. Canlı doğan enfekte buzağular ise yetişkin oluncaya kadar latent enfeksiyonu taşımakta ve kendilerinin gebelikleri döneminde aktive olunca bu enfeksiyonu fötuslarına geçirebilmektedir. Bunada “*endogenous transplasental bulaşma*” denir. Bu ikinci yol en önemli bulaşma şekli olup, *N. caninum* bu yolla bir hayvandan sonraki nesillere aktarılabilmektedir (75). Bulaşma gebelik süresince anneden fötusa vertikal yolla olabildiği gibi taşıyıcıların anneye ait dokulardan kan yoluna girmesi ve plasentaya geçerek fötal enfeksiyona sebep olması ile de olur. Abort problemi olan sürülerde vertikal bulaşma yaş ile azalmaktadır (68).

Karnivorlarda ise bulaşma enfekte dokularla birlikte parazitin kist formlarını almak suretiyle meydana gelmektedir. Abortlu fötüs, plasenta ve uterus atıkları köpekler için en yaygın enfeksiyon kaynağıdır (72,208,220).

*Neospora caninum*'un laktojenik olarak bulaşması, taşıyıcılarla bulaşık kolostrum ile beslenen yeni doğmuş buzağularda deneysel olarak kanıtlanmış (69); fakat doğal olarak bulaşmanın olduğuna dair herhangi bir kayıt yoktur. Bir sığır sürüsünde *N. caninum*'un enfekte bireylerden enfekte olmayan bireylere horizontal olarak bulaşması mümkündür; fakat doğal olarak bulaşmanın olmadığı bildirilmiştir (64). Ayrıca *N. caninum*'un taşıyıcıları ile bulaşık süt ile beslenen köpeklerde ookist atılmadığı gözlenmiştir (69).

## 1.8.2. Risk Faktörleri

*Neospora caninum*'a yakalanmış sürülerde ve *N. caninum*'a bağlı gelişen abortlarda, risk faktörlerinin bilinmesi neosporosisin şiddetinin belirlenmesinde ve koruma-kontrol tedbirlerinin alınmasında önem arz etmektedir. Neosporosisde koruyucu veya risk faktörleri hakkındaki bilgiler gruplar-arası çalışmalar (cross-sectional) veya olgu-kontrol (case-control) çalışmalarına dayalıdır (93).

### 1.8.2.1. Sığırların Yaşı

Sığır neosporosisinde seropozitiflik ile yaş arasındaki ilişki konusunda farklı görüşler mevcuttur. Sütçül ve etçil sığırlarda gebelik sayısı veya yaşla orantılı olarak seropozitif olma riskinin artabileceği bildirilmiştir (138,204). Son zamanlarda Avrupa'da yapılan çalışmalarda sütçül sığırlarda seropozitifliğin yaşla değişebileceği gözlenmiştir. **Jensen ve ark.** (138), **Sanderson ve ark.** (204), **Thurmond ve Hietala** (218), **Woodbine ve ark.** (236) yaş ile enfeksiyon arasında ilişkinin olduğunu ileri sürerken, **Davison ve ark.** (65), **Quintanilla-Gozalet ve ark.** (196) sığırlardaki seropozitiflik oranı ile yaş arasında bir ilişkinin bulunmadığını bildirmişlerdir. Yine **Koiwai ve ark.** (143) tarafından, Japonya'nın 18 bölgesinden toplanan sağlıklı sütçül sığırlarda *N. caninum* üzerine yapılan prevalans çalışmasında, seroprevalansın sığırın yaşı ile artmadığı görülmüş ve Japonya'da vertikal bulaşmanın horizontal bulaşmadan daha önemli olabileceği düşünülmüştür.

### 1.8.2.2. Son Konaklar (Köpek ve Koyota)

Sütçül sürülerde yapılan epidemiyolojik çalışmaların çoğunda seropozitif sığırlar için diğer bir risk faktöründe çiftlikteki köpeklerin varlığı veya sayısıdır. Köpek dışkılarıyla atılan ookistlerle sığırların gıdaları ve yem ambarları kontamine olduğu bildirilmiştir (68,93). Köpekler neosporosis arakonakların enfekte



dokularıyla birlikte parazitin kist formlarını almak suretiyle yakalanmaktadır. Abort olmuş fötüs, plasenta ve uterus içeriği köpekler için en yaygın enfeksiyon kaynağıdır (65,72,208,220). Bu da postnatal enfeksiyonları işaret etmektedir. Son zamanlarda koyotaların da *N. caninum*'un son konakları oldukları bildirilmiştir (112). Teksas'ın farklı ekolojik bölgelerinde yapılan epidemiyolojik bir çalışmada koyota veya gri tilkilerin çokluğu ile etçil sığırlarda *N. caninum*'un seroprevalansı arasında ilişki olduğu belirlenmiştir (22). Deneysel bir çalışmada kırmızı tilkinin *N. caninum* için son konak olmadığı bildirilmesine rağmen (208), kırmızı tilki veya kurtların *N. caninum*'da postnatal enfeksiyonların kaynağı olduğu tartışılmakta ve Kanada'da doğal olarak enfekte tilkilerin dışkısında *N. caninum* benzeri ookistlerin saptandığı bildirilmektedir (233). Yakın zamanda kurtların köpeklerle filogenetik yakınlıklarından dolayı diğer bir potansiyel son konak olabileceği hipotezi ileri sürülmektedir (112).

### 1.8.2.3. Diğer Karnivorlar

Deneysel çalışmalarda *N. caninum* için kedinin son konak olmadığı bildirilmiştir (164). İlginç olarak süt sığırlarında yapılan epidemiyolojik çalışmada bir çiftlikte kedilerin bulunması neosporosis için koruyucu bir faktör olarak gözlemlenmiştir. Muhtemel olarak bu faktör, deneysel olarak arakonak oldukları bilinen fare gibi bazı hayvan türlerinin kediler tarafından yenilmesi nedeniyle kedilerin bulunduğu çiftliklerde neosporosisin daha az görülebileceği düşüncesini doğurmuştur (181).

### 1.8.2.4. Sığır dışında diğer arakonaklar

Hem sığırlar hem de diğer arakonaklar köpek ve diğer köpekgiller için enfeksiyon kaynağı olarak gösterilmiştir. Doğal olarak enfekte olmuş fare ve ratta *N. caninum* DNA'sının varlığı, karnivor konakları için önemli bir enfeksiyon kaynağı olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada ayrıca ördek ve/veya tavşanın varlığının

da seropozitif sütçül sığırlar için kabul edilebilir bir risk faktörü olabileceği rapor edilmiştir (181).

#### 1.8.2.5. Yem ve içme suyu

Sonkonak dışkılarıyla atılan ookistlerle kontamine olmuş mera, yem ve içme suları sığırların postnatal enfeksiyonlarının oluşmasında potansiyel bir risk kaynağı olarak gösterilmiştir. **Sanderson ve ark.** (204) tarafından Birleşik Devletlerin Kuzeybatısında yapılan çalışmada, yaz ayları boyunca ortak meralarda sığırların otlatılmasının koruyucu bir faktör olabileceği fikri ortaya atılmıştır. Bu çalışmada yabani karnivor ve köpeklerin serbest dolaşması nedeniyle meralardaki ookist kontaminasyonun düşük olabileceği, ayrıca yaz aylarının kuru ve çok sıcak olması durumunda da ookistlerin canlı kalamayabileceği öne sürülmüştür. **Ould-Amrouche ve ark.** (181), gölet ya da kuyu sularının içme suyu olarak kullanılmasının sütçül sığırlar için risk faktörü olabileceğini bildirmişlerdir.

#### 1.8.2.6. Kolostrum ve Süt

Neonatal buzağılar taşıyıcı içeren süt içerek enfekte olabilmektedir (64). Sığır sütünde *N. caninum* DNA'sı bulunmuş olup (173,174), *N. caninum*'un laktojenik yolla bulaşmasının mümkün olup olmadığı hala devam eden bir tartışma konusudur (93). Bunun yanı sıra bekletilmiş kolostrumun sütçül sığırlarda seropozitiflik riskini artırdığı öne sürülmüştür (61).

#### 1.8.2.7. Irk

*Neospora caninum*'un seroprevalansının sığır ırklarına göre farklılık gösterdiğine dair birçok çalışma yapılmıştır. Yalnız bu çalışmalarda seroprevalans farklılığının ırk özelliğinden değil de farklı yetiştirme tarzı ve barınak şartlarından

kaynaklandığı ifade edilmiştir (196,218). Örneğin **Bartels ve ark. (30)**'nın yaptığı çalışmada, İspanyol ırklarının dağlık alanlarda yetiştirilmesinden dolayı Holstein Friesian, Rubia Gallega veya melez ırklardan daha düşük bir seropozitiflik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu seropozitiflik oranındaki farklılığın yetiştirme tarzından kaynaklandığı bildirilmiştir.

Bütün bu risk faktörlerinin dışında sürü büyüklüğü, enfekte hayvanların yer değiştirmesi, mevsim, depo edilmiş kuru yemler, iklim gibi faktörlerin enfeksiyon riskini artırabileceği ifade edilmiştir (93,117).

### **1.8.3. Prevalans**

#### **1.8.3.1. Sığırlarda Neosporosis**

Sığırlarda neosporosisin prevalansını saptamak için dünyanın birçok bölgesinde çeşitli çalışmalar yapılmış ve halen yapılmaktadır. Sığırlardaki seroprevalans çalışmaları ülkeler arasında, ülke içinde, bölgeler arasında, etçil ve sütçül sığırlar arasında farklılık göstermektedir. Bununla birlikte çalışma planı, incelenecek olan örneklerin büyüklüğü, farklı hayvancılık yönetimi ve kullanılan serolojik testin tipi ile hastalığın belirlenmesinde kullanılan cut-off seviyesine göre değişiklik göstermektedir. *Neospora caninum* enfeksiyonları başta Avustralya, Kanada, Yeni Zelanda, Danimarka, İrlanda, İngiltere, İspanya, İsrail, Hollanda, Almanya, Kore, Japonya, Tayland ve ABD gibi dünyanın birçok bölgesinde görülmektedir (72,87,199).

**Conrad ve ark. (60)**, sığırlarda paraziti ilk defa abort olmuş fötuslarda izole etmişlerdir. İsveç'te sütçül ineklerde *N. caninum* seroprevalansı %2 olarak bulunurken, abortlu ineklerde *N. caninum* antikörlerinin varlığı %7 olarak saptanmıştır (39). İngiltere ve Galler'de ise sığırlarda abortların %12,5 nedeni neosporosis olarak açıklanmıştır (65).

Japonya’da abort olmuş sütçül sığırlarda *N. caninum*’un seroprevalansına göre abortların %21,8’inin neosporosis kaynaklı olduğu düşünülmüştür (142). Yine **Koiwai ve ark.** (143) tarafından, Japonya’nın 18 bölgesinden random usulüyle klinik olarak sağlıklı sütçül sığırlardan toplanan 2420 serum örneği IFAT ile *N. caninum* antikoları bakımından incelenmiş ve %5.7 olarak bulunmuştur. Ayrıca bu çalışma ile seroprevalansın sığırın yaşı ile artmadığı ve seropozitif ineklerin abort yapmalarının daha muhtemel olduğu belirtilirken, Japonya’da vertikal bulaşmanın horizontal bulaşmadan daha önemli olabileceği önerilmiştir. Bu çalışma (143) Asya’da sığırlarda *N. caninum*’un seroprevalansını araştırmak için yapılan ilk çalışmadır.

**Razmi ve ark.** (198), İran’ın Horasan ve Meşhed bölgelerinde 30 sütçül sığır sürülerinden toplanan 337 serum örneğini ELISA yöntemiyle incelemiş ve sığırların %46’sını anti-*Neospora* antikoları bakımından seropozitif bulmuştur. Abort oranıyla seropozitiflik arasında önemli bir ilişkinin var olduğu ve en yüksek abort riskinin 1–2 yaş ineklerde gözlemlendiği belirtilmiştir.

İspanya’da 1997 yılında 43 sütçül sığır çiftliğinden random usulüyle toplanan 889 sığır serum örneğinin ELISA ile bakısında *N. caninum* seroprevalansının %30,6 olduğu belirlenmiştir (160). Kore’de toplam 492 sığırdan alınan serum örneklerinin IgG- ELISA ile %23’ünde *N. caninum* seropozitif bulunmuş olup, bu çalışmayla parazitin sığır abortlarının en büyük sebeplerinden biri olabileceği bildirilmiştir (18). Almanya’da ise toplam abort olmuş 135 sığır fötusunda histopatolojik/immunohistokimyasal muayene ile yapılan araştırmada %12.6 pozitiflik saptanmıştır (215).

**Schaes ve ark.** (209), Almanya’da sütçül sığırlarda yaptığı seroprevalans çalışmasında bir sürüden alınan toplam 4261 sığır serumunda IFAT ile % 27 oranında anti-*N. caninum* antikolarına rastlarken, **Bartels ve ark.** (30) ise aynı

ülkede etçil sığır sürülerinde yaptıkları çalışmada toplam 2022 sığırda %4,1 oranında anti- *N. caninum* antikorlarına rastlamışlardır.

Güney Amerika'da başta Arjantin, Brezilya, Şile, Paraguay, Peru ve Uruguay'da neosporosis üzerine çalışılmıştır. Arjantin'de sütçül ve etçil sürüler ile abortlu fötuslar üzerinde yapılan seroepidemiolojik çalışmada toplam 2414 ineğin serum örneği IFAT ile incelenmiş ve 400 etçil sığırın 19'unda (%4,7) ve 1048 sütçül sığırın 174'ünde (%16,6) anti-*Neospora* antikorları tespit edilmiştir (170). Atık yapmış ineklerden alınan toplam 966 serum örneğinde ise etçil sığır sürülerinde %18,9 (41/216), sütçül sığır sürülerinde ise %43,1 (323/750) oranında seropozitiflik saptanmıştır. Ayrıca bu araştırmada mikroskopik lezyonlu fetal dokular formalinde tespit edildikten sonra immunohistokimyasal yöntemle incelenmiş ve toplam 188 fötusun veya plesantanın 43'ünde (%22,8) *N. caninum* varlığı belirlenmiştir. Dolayısıyla en büyük pozitif oran sütçül sığır fötuslarında olduğu görülmüştür. Bu seroepidemiolojik araştırma ile bu bölgede sütçül sığır çiftliklerinde üreme kayıpları bakımından *N. caninum*'un önemli bir risk faktörü olduğu ortaya konulmuştur (170). Arjantin'de ayrıca 1994–2000 yılları arasında etçil ve sütçül sığır sürülerine ait toplam 354 fötusda yapılan histopatolojik inceleme sonucu 161 fötusun (%45,5) *N. caninum* ile enfekte olduğu tespit edilmiştir (51).

**Moore ve ark.** (169), yaptıkları derlemede Güney Amerika'da sığırlarda görülen neosporosisin prevalansı, Brezilya'da %14,1, Şili'de %36,4, Paraguay'da %36, Peru'da %62,1 ve Uruguay'da %56,7 olarak bildirilmiştir. **Corbellini ve ark.** (61), Brezilya'da yaptıkları çalışmada bir sığır çiftliğinde *N. caninum*'un seroprevalansı IFAT ile %17,8 oranında belirlenirken, köpeklerin varlığı ve hatta köpek sayısı o çiftlikte neosporosis için önemli bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Yine **Wouda ve ark.** (239), sığırlar ile çiftlik köpekleri arasında *N.caninum* antikorlarının prevalansı bakımından pozitif ilişki olduğunu kaydetmişlerdir. Dolayısıyla köpek bulunmayan çiftliklerdeki sığırlarda *N. caninum*'un seroprevalansı köpek bulunduran çiftliklerden daha düşük olduğu bildirilmiştir.

### 1.8.3.2. Köpeklerde Neosporosis

*Neospora caninum*, köpeklerde ciddi bir hastalığa neden olan protozoondur (38,72,76,78,87). *Neospora caninum*'un neden olduğu neosporosis enfeksiyonu ilk defa Norveç'te encephalomyelitli ve miyozitli bir köpekde teşhis edilmiştir (38). Evcil köpeklerin *N. caninum* için sonkonak olduğu 1998 yılında bulunmuş (163) ve köpeklerde nöromusküler hastalıklara neden olduğu belirtilmiştir. Bunun dışında koyotaların (*Canis latrans*), enfekte arakonakların dokularını yedikten sonra ookist çıkardıkları ve dolayısı ile bu hayvanların parazitini biyolojisinde sonkonak olarak görev yaptıkları belirlenmiştir (112,163).

Hastalık sınırlandırılmış veya genellenmiş olabilir ve deri dâhil hemen hemen bütün organları içerebilir. Çok sayıda *N. caninum* içeren dermatitis şiddetli olabilir (76,146,226). Köpekler herhangi bir yaşta enfektif olabilirler. Subklinik olarak enfekte dişi köpeklerden fôtusa parazit bulaşabilir ve aynı dişi köpekten ard arda doğan yavrular enfekte doğabilir. Köpeklerde neosporosis farklı cinslerin hassas ve eğilimli olup olmadıkları bilinmemektedir. Çoğu vakalar labrador av köpekleri, boxer köpekleri, gri tazı ve altın rengi av köpeklerinde tanımlanmıştır (72,78,134).

Çoğu köpek neosporosisden dolayı ölebilmektedir. Deneysel olarak oluşturulan *N. caninum* enfeksiyonları, köpeklerde uterusu yavru ölümüne ve hastalıklı yavruların doğumuna neden olmaktadır. Hasta olarak doğan yavruların birkaçı ölür, geriye kalanlar ise normal olarak hayatlarına devam ederler (48,78). *Neospora caninum* çoğunlukla nöromusküler belirtili köpeklerden çeşitli zamanlarda izole edilmiştir. Herhangi bir klinik belirti göstermeyen köpeklerde *N. caninum*'un izolasyonu hakkında hiç bir veri bulunmamaktadır (72).

Çeşitli serolojik testlerle köpeklerde *N. caninum* enfeksiyonuna ait antikorlar tanımlanabilmiştir. Bunlardan IFAT en sık kullanılan testtir. Klinik neosporosis için teşhis titresi ile ilgili olarak bir fikir birliği halen oluşmamıştır. Ayrıca köpeklerde,

sığırlarda olduğu gibi PZR ile parazitin DNA'sı ortaya konulabildiği gibi, fare ve hücre kültüründe de *N. caninum* izole edilebilmiştir (78).

**Barber ve ark.** (19), klinik neosporosisli altı köpeğin MSS ve diğer dokularında *N. caninum*'un yayılımı üzerine yaptıkları immunohistokimyasal bir çalışmada, parazitin özellikle beyin ve medulla spinalisin çeşitli bölgelerinde yerleştiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada kronik vakalarda parazitlerin özellikle beyinde yoğunlaştığı, akut vakalarda ise taşıyıcılar MSS'nin dışındaki birçok organda özellikle iskelet, özafagus ve kalp kasında, akciğerler ve daha az sıklıkla karaciğer ve nadiren adrenal bez, tiroid bez ve uterusu bulunmuştur. Perakut vakalarda ise bütün viseral organlarda parazitin taşıyıcılarına rastlanılmıştır. Ayrıca klinik belirtiler doğrultusunda seçilecek kaslardan elde edilecek biyopsi materyalinin parazitin kesin teşhisi bakımından değerlendirilmesinin doğru olacağı vurgulanmıştır.

**Rasmussen ve Jensen** (197), Danimarka'nın çeşitli bölgelerinde 6 veteriner kliniğinden daha önce hiç enfekte olmamış erkek ve gebe olmayan dişi köpekten toplam 98 serum örneğini incelemiştir. Çalışma sonucu %15,3 oranında *N. caninum* antikorlarının olduğu tespit edilmiştir.

**Pasquali ve ark.** (189), İtalya'da 2 aylık bir Pit-Bull Terrier köpekde klinik neosporosis teşhis etmişlerdir. Bu köpekde klinik olarak ilerleyen zayıflık, depresyon, ataksi, patella refleksinde bilateral kayıp ve arka bacak kaslarında ağrı belirtileri tespit edilmiştir. Vakanın IFAT ile yapılan serolojik yoklamasında *N. caninum*'a karşı 1:3200 titrede antikor varlığı bulunmuştur. Miyozitli semitendinous kasında ise *N. caninum* taşıyıcıları bulunmuş ve teşhis spesifik anti-*N. caninum* antikorları kullanılarak yapılan immunohistokimyasal boyama tekniği ile doğrulanmıştır. Bu çalışma İtalya'da köpeklerde sistemik neosporosis'in ilk raporudur.

Kentsel ve kırsal köpeklerde epidemiyolojik olarak *N. caninum*'un prevalansını karşılaştıran çalışmalar vardır. **Sawada ve ark.** (206), Japon köpeklerinde *N. caninum* antikor prevalans çalışmasında, sütçül sığır çiftliklerinde yetiştirilen 48 köpekten 15'inde (%31,3) pozitiflik belirlenirken, Japonya'nın kentsel alanlarından toplanan 198 köpeğin 14'ünde (%7,1) *N. caninum* antikorları rapor edilmiştir. **Wouda ve ark.** (239), Hollanda'da sütçül sığır çiftliklerden toplanan 152 köpekle, kentsel alanlardan toplanan 344 köpeğe ait serum örnekleri ELISA yöntemiyle anti-*N. caninum* antikorları bakımından karşılaştırılarak çalışılmıştır. Bu çalışma ile çiftlik köpeklerinde % 23,6'lık seropozitifliğe karşın kentsel köpeklerde yalnızca %5,5 oranında düşük bir seropozitiflik tespit edilmiştir. Ayrıca köpeklerde *N. caninum*'un seroprevalansı cinsiyet ve yaş ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Buna göre dişi köpeklerde erkek köpeklere göre seroprevalans daha yüksek tespit edilirken seroprevalansın postnatal enfeksiyon göstererek yaş ile arttığı belirtilmiştir.

**Peters ve ark.** (191) tarafından *N. caninum* ile enfekte 11 haftalık bir köpek yavrusunda gözlenen pathomorfolojik lezyonlar ve klinik belirtiler rapor edilmiştir. Araştırmacılar, Almanya'da paraziti ilk kez immunohisyo kimyasal muayene ile izole ederek, başta retina olmak üzere çeşitli dokularda (beyin, kalp, omirilik sıvısı, karaciğer, böbrek, mide, adrenal bezler ve cilt) parazitin yayılmasını ve bu dokulardaki taşıyıcı ile bradizoitler arasındaki farklılığı bildirmişlerdir.

Arjantin'de 320 köpeğin 121'inde %37,8 oranında *N. caninum*'a ait antikorlar saptanmıştır (31). **Antony ve Williamson** (16), Yeni Zelanda'nın merkezindeki kentsel alanlar (n=150), etçil koyun çiftlikleri (n=154) ve sütçül çiftliklerinden (n=161) toplanan köpek serumlarını IFAT ile analiz ederek kentsel köpeklerde %30,7, sütçül çiftlik köpeklerinde %74,5 ve etçil koyun çiftlik köpeklerinde ise %96,8 oranında *N. caninum* seroprevalansı saptamışlardır.

Kore'de vahşi rakun köpekleri (*Nyctereutes procyonoides koreensis*) ile kırsal ve kentsel evcil köpeklerdeki seroprevalans çalışması sırasıyla DAT ve IFAT ile yapılmıştır (140). Bu çalışma ile anti- *N. caninum* antikorları sütçül çiftliklerde



bulunan köpeklerin %21,6'sında ve kentsel köpeklerin %8,3'ünde bulunmuştur. Antikor titreleri 1:50'den 1:400'e sıralanmıştır. Bu çalışmada 26 rakun köpeğin 6 (%23)'sında anti-*N. caninum* antikorları bulunmuştur. Kore'de rakun köpeklerinde *N. caninum* seroprevalansının sığırlarla sütçül sığır çiftlik köpekleri arasında enfeksiyon bakımından yakın bir ilişki içinde tespit edilmiştir. Bununla beraber sığır neosporosisin horizontal bulaşmasının bir kaynağı olarak rakun köpeklerin potansiyel rolü daha fazla araştırılması gerektiğini bildirmişlerdir (140).

Brezilya'nın bazı bölgelerinden (Amazon, Rondonya, Monte Negro) toplanan 157 köpeğin serumunda IFAT ile *N. caninum*'un antikorları analiz edilmiş, çalışma sonucu 1:50'de 1, 1:100'de 2, 1:200'de 5, 1:800'de 1, 1:1600'de 2 ve 1:3200 sulandırma basamağında 2 köpek olmak üzere toplam 13 köpekte %8,3 oranında anti-*N. caninum* antikorları tespit edilmiştir. Bu çalışmada köpeklerde yaş, cinsiyet, ırk ve beslenme şekillerine de bakılmıştır. Seroprevalans, cinsiyetler ve farklı yaş grupları (0-24 ve >24 aylık) arasındaki köpeklerde benzerlik gösterirken, ırk olarak sahipli köpeklere nazaran sokak köpeklerinde daha yüksek saptanmıştır. Beslenme şekillerine göre ise ev yemekleriyle beslenen köpeklerde dışarıdan satın alınan hazır gıdalarla beslenen köpeklere göre daha yüksek bir seroprevalans olduğu bildirilmiştir (53).

### 1.8.3.3. Su Mandalarında Neosporosis

Su mandasında (Water buffalo, *Bubalus bubalis*) Brezilya, Hindistan, İtalya ve Vietnam'ı içeren birçok ülkenin ekonomisi için önemlidir. Serolojik çalışmalar, dört ülkede mandaların *N. caninum*'a maruz kaldıklarını göstermiştir. **Gennari ve ark.** (104), Brezilya'nın kuzey bölgesinde bulunan üç çiftlikten toplam 196 su mandasından alınan serum örneklerinin %70,9'unda IFAT ile anti-*N. caninum* antikorları saptamışlardır. **Fujii ve ark.** (102), Brezilya'nın güneydoğusundan 222 dişi su mandasından serum örnekleri toplayarak IFAT ve DAT testi ile *N. caninum*'un seroprevalansını belirlemişlerdir. IFAT ile 1:25'den 1:800'e kadar

değişik titrelerde %64 seroprevalans tespit edilirken, DAT ile 1:40'dan 1:320'ye kadar sulandırma titrelerinde %53 oranında yaygınlık gösterdiğini kaydetmişlerdir.

Vietnam'ın güneydoğusunda 1995 yılının Mayıs ve Eylül ayları arasında 200 etçil su mandasında toplanan serum örneklerinin ELISA ve IFAT ile analizi yapılmıştır. Çalışma sonucunda su mandasının %1,5'inde *N. caninum* antikorları olduğu bildirilmiştir (130).

**Dubey ve ark.** (93), Mısırdaki toplam 75 su mandasının DAT ile 51'inde (%68 oranında) *N. caninum* antikorlarını bulmuşlardır. **Yu ve ark.** (245), Çin Halk Cumhuriyeti'nde toplam 40 su mandasında ELISA ve indirect agglutination test (IAT) ile yapılan çalışmada mandaların hiç birinde antikorların olmadığı bildirilmiştir.

#### 1.8.3.4. Koyunlarda Neosporosis

*Neospora caninum* ilk defa İngiltere'de konjenital olarak enfekte olan kuzularda teşhis edilmiştir (80). **Dubey ve Lindsay** (86), 8 yaşındaki 2 dişi koyunun birincisine  $1,5 \times 10^7$  taşızoiti i.v. yolla, ikincisine aynı miktar taşızoiti i.m. yolla inokule etmişlerdir. Bir hafta sonra koyunlarda hafif bir iştah kaybı dışında hiçbir klinik belirti görülmemiştir. Fakat her iki koyunda ikiz kuzularını inokulasyondan 1 ay sonra abort etmişlerdir. Atık fötüslerin otopsilerinde tipik *N. caninum* lezyonları gözlenmiştir.

Koyunlarda klinik ve patolojik belirti olarak abort ve ölü doğumlar gözlenirken, neonatal kuzularda meningeslerde ve medulla spinaliste yangı ve ataksi görülmektedir. Koyun fötüslerinde ise otoliz ve mumifikasyon, ensefalitis, plasentitis, diyafram, karaciğer ve akciğerlerde yangı meydana gelmektedir (226).

**Helmick ve ark.** (121) tarafından İngiltere ve Galler'de abort yapmış 660 koyun serumunda direct ELISA ve IFAT ile serolojik olarak *N. caninum* çalışılmıştır. Araştırma sonucu koyun serumlarının yalnızca 3'ünde hem ELISA hemde IFAT ile %0,45 oranında seropozitiflik saptanmıştır. Bu çalışma ile koyunların çevresel olarak *N. caninum*'a maruz kalmalarının ender olduğu vurgulanmıştır. **Koyama ve ark.** (145), doğal olarak enfekte gebe koyunlarda *N. caninum*'u ilk defa izole etmişler. **Kobayashi ve ark.** (141) ise Japonya'da doğal olarak neosporosisli koyun ve onun iki fötusunda kalın duvarlı *N. caninum*'un doku kistlerini histopatolojik muayene ile tespit etmişlerdir. Ayrıca *N. caninum*'un DNA'sı koyunun beyinde PZR ile saptanmıştır. Gebe koyunların deneysel olarak *N. caninum* taşıyıcıları ile enfeksiyona daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (47,131).

**Hassig ve ark.** (120), İsviçre'nin Zürih şehrinde sürekli abort problemi olan bir sürüden toplanan 117 koyun serumunda IFAT ile *N. caninum* seropozitiflik belirleme çalışması yapmışlardır. Çalışmada %10,3 oranında seropozitiflik saptanırken, PZR ile 20 abortlu koyunun 4'ünün beyinde *N. caninum* tespit edilmiştir. **Figliuolo ve ark.** (99), Brezilya'nın güneydoğusunda bulunan 597 koyun serumunda IFAT ile %9,2 oranında seroprevalans saptamışlardır.

Yeni Zelanda'da 7 sürüde ilk doğumunu yapan koyunlarda beklenmeyen atıklar araştırılmış olup, bu sürülerin ikisinde atık yapmış koyunların IFAT ile atık yapmamış olanlara kıyasla daha yüksek seropozitif oldukları belirtilmiştir. Sürülerden birinde abort yapan 5 fötusun 4'ü *N. caninum* bakımından seropozitif bulunmuş ve *N. caninum*'un Yeni Zelanda'da koyun atıklarının bir sebebi olabileceği düşünülmüştür (234).

### 1.8.3.5. Keçilerde Neosporosis

*Neospora caninum*'a bağlı neonatal ölümler ve abortlar; Amerika'da cüce pygmy keçilerinde (73), Kosta Rica'da sütçül bir keçi sürüsünde (90), bildirilmiştir.

Kosta Rica'da abortlu 77 süt keçisinin 5'inde IFAT ile anti-*N. caninum* antikorları bulunmuştur. **Eleni ve ark.** (95), abortlu keçi fötusunun beyinde PZR ile *N. caninum* DNA'sını teşhis etmişlerdir.

Pygmy keçileri, deneysel *N. caninum* enfeksiyonlarına duyarlı bulunmuşlardır. Gebelik boyunca *N. caninum* inokülasyonu ile enfekte edilen keçilerde fötuslar enfekte olmuş ve abortlar şekillenmiştir (156).

**Uzêda ve ark.** (228), Brezilya'nın Bahia'ya bölgesinden 9 sütçül keçi sürüsünden 384 serum örneğini IFAT ile incelemiş ve 58'inde (%15) anti-*N. caninum* antikorları bulunmuştur. Bu çalışmada yaş grupları arasında önemli farklılık olmadığı belirlenirken, Alpine ırkının (%24), Saanen (%14) ve Nubian (%3) ırkından seroprevalansının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

### 1.8.3.6. Atlarda Neosporosis

*Neospora caninum* enfeksiyonu atlarda da diğer hayvanlardaki gibi benzer klinik belirtiler göstermektedir. Atlarda klinik ve patolojik belirtiler diğer hayvanlarda olduğu gibi abort, neonatal taylarda zayıf doğum, ensefalitis, medülla spinaliste ve kaslarda yangı, arka bacaklarda felç görülmektedir (72,74).

Sekiz yaşında bir kısrağın, normal doğumundan 2 ay önce abort yaptığı ve bu atın serumunda *T. gondii*'ye karşı antikor tespit edilemediği, ancak fötusun akciğerlerinde anti-*Neospora* serumuyla pozitif reaksiyon veren taşıyıcı gruplarına rastlanıldığı bildirilmiştir (91). **Marsh ve ark.** (162), 1996 yılında ABD'nin Kaliforniya eyaletinde bir attan izole edilen türün *Neospora* cinsine bağlı başka bir tür olabileceği kaydedilmiş ve bu tür *Neospora hughesi* olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra buna benzer bir tür ABD'de Oregon'da bir attan daha izole edilmiştir (83). Bu izolasyon çalışmalarında türün morfolojik ve biyolojik olarak karakteristik

özellikleri rapor edilmiştir. *Neospora hughesi*'nin doku kistleri duvar kalınlığının *N. caninum*'dan daha ince ve bradizoitlerinin de *N. caninum*'dan daha küçük olduğu belirtilmiştir (162). Atlarda *Neospora*'nın tek türünün *N. hughesi* olup olmadığı halen bilinmemektedir.

**Patitucci ve ark.** (190), tarafından Şili'de IX. Bölgeden 87 ve VII. Bölgeden 58 olmak üzere toplam asemptomatik 145 attan serum toplanılmıştır. Bu serumlarda DAT ile %32 oranında anti-*Neospora* antikoru tespit edilmiştir. Bu Güney Amerika ve Şili'de atlarda yapılan ilk çalışmadır. **Jakubek ve ark.** (135) ise 414 İsveç atından alınan serum örneklerinde toplanarak ISCOM- ELISA testi ile %1 oranında bir seropozitiflik saptamışlardır.

#### 1.8.3.7. İnsanlarda Neosporosis

**Barr ve ark.** (27) tarafından iki rhesus maymuna (*Macaca mulata*) deneysel olarak *N. caninum* taşıyıcıları inoküle edilmiştir. İmmunohistokimyasal olarak bu hayvanların dokularında *N. caninum* tespit edilirken, potansiyel olarak zoonotik bir rolünün olduğu düşünülmüştür. Fakat şüana kadar *N. caninum* ile enfekte insanlarda parazitin varlığını gösteren sağlam kanıtlar bulunamamıştır. Yalnızca kan serumlarında *N. caninum* antikoru rapor edilirken, ne *N. caninum* DNA'sı ile parazitin kendisi dokularında ispatlanamamıştır. **Nam ve ark.** (175), immunoblot tekniğini kullanarak insan serumunda *N. caninum*'u tespit ederken, DAT ile negatif oldukları bulmuşlardır. Kaliforniya'da ise kan donörlerinden alınan 1029 serumun 69'unda (%6,7) IFAT ile düşük seviyeli (1:100) sulandırmada *N. caninum* antikoru rapor edilirken, 1:200 sulandırmada negatif olduğu belirlenmiştir (221).

**Graham ve ark.** (114) tarafından Kuzey İrlanda'da 247 kan donöründen alınan serumda IFAT ile 1:160 sulandırmada %8 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir. **Petersen ve ark.** (192) tarafından Eylül 1991 ile 31 Ekim 1992 tarihleri arasında tekrarlanan ilk ya da ikincil düşüklerin veya tekrarlanan intrauterin fötüs

ölümlerinin olduğu gebe kadınlarda geniş bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada toplam 19 ile 41 yaş arası 76 kadından serum örnekleri toplanmıştır. Bu örneklerde ELISA, IFAT ve western blot testleri ile *N. caninum* antikorları araştırılmıştır. Çalışma sonucu düşük yapma geçmişi olan bu kadınların hiç birinde anti-*N. caninum* antikorlarına rastlanmamıştır. Ancak etkenin immun sistemi baskılanmış bireylerde enfeksiyon oluşturma ihtimali araştırılması gereken bir konu olarak gizemini sürdürmektedir. Nitekim **Lobato ve ark.** (158) tarafından Brezilya'da HIV pozitif hastalardan 61, nörolojik rahatsızlığı olan hastalardan 50, yeni doğmuşlardan 91 ve sağlıklı bireylerden 54 olmak üzere toplam 256 serum örneği toplayarak IFAT, ELISA ve immunoblot yöntemleriyle anti-*N. caninum* ve *T. gondii* IgG antikorları yönünden değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda ağırlıklı olarak HIV-pozitif hastalarda %38, nörolojik rahatsızlığı olan hastalarda %18 *N. caninum*'un IgG antikorları bulunurken, yeni doğmuş bireylerde %5 ve sağlıklı bireylerde ise %6 oranında düşük seropozitiflik tespit edilmiştir. Bu çalışma ile *N. caninum*'un seropozitifliği hem HIV ile enfekte hastalarda hemde nörolojik rahatsızlığı olan hastalarda fırsatçı bir parazit olan *T. gondii* enfeksiyonu ile eşzamanlı olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir.

İngiltere'de çiftlik çalışanları ve düşük yapan kadınlardan toplanan 400 kan serum örneğinde IFAT ile yapılan çalışmada 1:400 sulandırma basamağında *Neospora* yönünden negatif bulunmuştur (223). Yine **McChan ve ark.** (165) tarafından İngiltere'de yapılan bir başka çalışmada ise insanlardan toplanan serum örneklerinde IFAT ve ELISA ile anti- *N. caninum* antikorları saptanmamıştır.

### 1.8.3.8. Yabani Hayatta Neosporosis

**Gondim ve ark.** (111), evcil ve yabani hayvanlar arasında *N. caninum*'un bulaşması üzerine yaptıkları çalışmada doğal olarak enfekte olmuş beyaz kuyruklu geyiğin beynini 4 köpeğe yedirmiştir. Bu köpeklerden 2 tanesinde ookist atılımı gözlenmiştir. Köpeklerin bir tanesinden atılan ookistlerde PZR ile *N. caninum*

DNA'sı tespit edilmiştir. Ayrıca bu araştırmada çeşitli yabani hayvanlardan elde edilen kan serum örnekleri IFAT ile anti-*N. caninum* antikorları bakımından değerlendirilmiştir. Bu teste göre, serbest yaşayan gri kurtlarda (*Canis lupus*) 64/164 (%39), koyotalarda (*Canis latrans*) 12/113 (%11), beyaz kuyruklu geyiklerde 50/193 (%26) ve farelerde (*Alces alces*) 8/61 (%13)' inde seroprevalans belirlenmiştir. Araştırmacıların bu çalışma sonucu tahminlerine göre, geyiklerden köpeklere *N. caninum*'un bulaşmasını insanların avlanma sonucu geyik kargaslarını genellikle meraya atmalarından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Polonya'nın güneybatı bölgesindeki dört çiftlikten 60 gümüş rengi tilki ve aynı bölgenin ormanlık arazilerinden 45 kırmızı tilkiye ait serum örnekleri IFAT ile anti-*N. caninum* IgG antikorları bakımından değerlendirilmiştir. Çalışma sonucu kırmızı tilkilerin 2'si (%4,4), gümüş rengi tilkilerin 1'i (%1,7) pozitif bulunmuştur (214).

**Dubey ve Thulliez** (94), Birleşik Devletlerde çeşitli yabani hayvanlardan topladıkları serumları *Neospora* Aglutinasyon Testi (NAT) ile anti-*N. caninum* antikorları bakımından. 1:40 veya daha yüksek titrelerde değerlendirmiş ve 249 bizon (*Bison bison*)'un 5'inde, 160 ren geyiği (*Rangifer tarandus*)'nin 5'inde, 162 Amerika geyiği (*Alces alces*)'nin 4'ünde, 122 kurt (*Canis lupus*)'un 4'ünde ve 224 yabani manda (*Ovibos moschatus*)'nın 1'inde antikor saptanırken, 197 siyah ayı (*Ursus americanus*)'nin hiç birinde tespit edilmemiştir. Bu çalışma ile ayıların *N. caninum* için iyi bir konak olmadığı belirtilirken, NAT ile *T. gondii* için yapılan MAT arasında kross reaksiyon olmadığında bildirilmiştir. Çünkü Doğu Birleşik Devletlerinde siyah ayıların %80'den fazlası 1:25 serum dilüsyonunda MAT antikorlarına sahip olduğu saptanmıştır.

**Steinman ve ark.** (216), 1999- 2004 yılları arasında İsrail'de 114 yabani altın çakal (*Canis aureus*), 24 kırmızı tilki (*Vulpes vulpes*) ve 9 kurt (*Canis lupus*) olmak üzere toplam 147 yabani köpekgillerin serum örnekleri IFAT ile *N. caninum* antikorları yönünden incelemişlerdir. Bu seroprevalans çalışma sonucu 1:50 IFAT

titresiyle altın çakalların yalnızca ikisinde, 1:400 IFAT titresi ile kırmızı tilkilerin ve kurtların yalnızca birinde anti-*N. caninum* antikoru tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada %2,7 oranında düşük bir seroprevalansın bulunması İsrail’de *N. caninum*’un epidemiyolojisinde yabancı köpekgillerin önemli bir rolü olmadığı gösterilmiştir.

### 1.8.3.9. Türkiye’de *Neospora caninum*’un Prevalansı

Türkiye’de neosporosisle ilgili ilk çalışma **Coşkun ve ark.** (63), tarafından 1998 yılının Haziran ve Eylül ayları arasında Adana ve Bursa illerinden toplanan 150 köpek serumunda yapılmıştır. Adana ilinde iki yaşından altı yaşına kadar 10 erkek, 34 dişi olmak üzere toplam 44 köpekten, aynı şekilde Bursa yöresinde altı aylıktan sekiz yaşına kadar 21 erkek, 85 dişi olmak üzere toplam dokuz ayrı cins evcil köpekten 106 serum örneği toplanmıştır. Bütün serum örneklerinde IFAT ile *N. caninum*’un IgG antikoru bakılarak, toplam 150 köpek serumunun 15’i (%10) pozitif bulunmuştur. Yine **Batmaz ve ark.** (34), arka bacaklarında hızla gelişen felç belirtisi şikayetiyle sahibi tarafından kliniğe getirilen dokuz haftalık bir dişi Doberman Pincher cinsi köpek yavrusunda IFAT ile serebrospinal sıvıda anti-*N. caninum* IgG antikoru test edilmiştir. 1:800 serum dilüsyonunda pozitif olarak bulunmuştur. Bu köpekte karakteristik klinik belirtiler (sert hiperekstensiyon gibi) ve serolojik muayene ile teşhis konulmuştur. Tanı konulan köpek sülfadiazin-trimetoprim (15mg/kg), klindamisin (10 mg/kg) ve pirimetamin (1 mg/kg) ile 18 gün tedavi edildikten sonra ölmüştür. Sahibi tarafından otopsi yapılmasına izin verilmemiştir. Araştırmacılar tarafından klinik neosporosisin teşhisi konulmuştur, fakat kesin şüphelerin ortadan kalkması için histolojik ve immunohistokimyasal muayenesinin yapılması gerektiği bildirilmiştir.

Son yıllarda **Yıldız ve ark.** (243) tarafından Kırıkkale şehir merkezi ve köylerinde yaşayan köpeklerde seroprevalans çalışması yapılarak, toplanan 121 köpek kan örneğinde IFAT yöntemiyle %28,9 oranında *N. caninum*’a ait IgG



antikorlarının varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada seropozitiflik oranı erkek köpeklerde dişi köpeklere göre daha yüksek bulunmuştur. İki grup arasında pozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılığın istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu bildirilmiştir ( $p<0,05$ ). Aynı çalışmada ırka göre yapılan serolojik muyenede saf ırk köpeklerde %36,5, sokak köpeklerinde ise %20,7 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir. Seropozitiflik oranının saf ırklarda daha yüksek olduğu fakat iki grup arasında pozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). Aynı zamanda araştırmacılar toplanan köpek serumlarında yaş ve yerleşim yerlerine görede *N. caninum*'un seropozitifliğini ortaya koymuşlardır. Köpeklerin yaşları ve buldukları yerler arasında ise *N. caninum* seropozitifliği bakımından önemli farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (243).

**Bıykoğlu ve ark.** (35), 1997-1998 yıllarında İç Anadolu bölgesinden toplanan 3290 sığır serumunda *N. caninum*'un varlığını araştırarak, Ankara'da %10, Çankırı'da %6,93, Eskişehir'de %5,46, Kayseri'de %10,8, Kırıkkale'de %32,72, Kırşehir'de %19,55, Nevşehir'de %5,10, Yozgat'ta %20,32 oranında seropozitiflik saptamışlardır. **Öncel ve Bıykoğlu** (182), 2003 yılının Şubat-Temmuz ayları arasında süt sığırlarından toplanan 92 sığır serumunu *N. caninum* antikoru yönünden kompetatif ELISA (cELISA) kiti ile test etmişlerdir. Bu yöntemle Sakarya yöresinde %9,2 oranında seropozitiflik saptamışlardır.

**Akça ve ark.** (5), Kars yöresinde 228 yerli ve 73 ithal edilmiş simental ırk olmak üzere toplam 301 sığır serumu üzerinde yapılan *N. caninum*'un prevalans çalışmasında genel olarak %2 oranında seropozitiflik tespit etmişlerdir. Bu çalışma ile simental ırkta %8,2 oranında seropozitiflik tespit edilirken, yerli ırk sığırlarda ise sadece bir tane şüpheli olup, seropozitiflik tespit edilmemiştir. Çalışmada test edilen ithal hayvanlardan 12'si 1994 yılında Almanya'dan ithal edilen orjinal birinci nesil denilen ilk hayvanlardı. Geriye kalan 61 simental ise orjinal kültür ırkı dediğimiz sonraki nesillerdi. Araştırmacılar bu çalışma ile *N. caninum*'un ithal edilmiş hayvanlarla yöreye sokulmuş olabileceğini bildirmişlerdir.

**Sevgili ve ark.** (211), tarafından Şanlıurfa'da sığırlarda *N. caninum*'un seroprevalansını belirlemek için toplam 305 sığır serum örneği ticari kompetatif inhibisyon ELISA (CI-ELISA) testi ile analiz edilmiştir. Şanlıurfa'da 305 sığırın 23 (%7,5)'ünde *N. caninum* antikoru tespit edilirken, sığırlarda örneklerin alındığı odaklar, hayvan ırkları ve yaşları arasında önemli bir fark olmadığı vurgulanmıştır. Türkiye'de sığırlarda *N. caninum*'un seroprevalansı üzerine yapılan bir başka çalışma ise, Kayseri yöresinde 9'u abort yapmış toplam 186 sığırdır yapılmıştır. Toplanan serum örnekleri c-ELISA kiti ile test edilerek 186 sığırın 13'ünde (%7) *N. caninum* antikoru saptanırken, abort yapan 9 inekten 3'ü (%33,3) seropozitif bulunmuştur (133).

**Aktaş ve ark.** (7), Ocak 2003- Haziran 2004 tarihlerinde Doğu Anadolu Bölgesindeki Elazığ, Malatya, Muş ve Bingöl'den değişik yaş ve ırkta toplam 513 sığır ile atık yaptığı belirlenen 32 inekten serum örnekleri toplamışlardır. Bu serum örneklerinde ELISA testi ile %7,01 oranında *Neospora* seropozitif bulunmuştur. Seropozitiflik oranının Elazığ'da %15, Malatya'da %4, Muş'ta %4,86 ve Bingöl'de %4,69 olduğu belirtilmiştir. Atık yapan ineklerdeki seropozitiflik oranı ise %3,12 olarak belirlenmiştir.

**Vural ve ark.** (229), İç Anadolu Bölgesinde sekiz ayrı ilden toplanan 3287 sığır serum örneğinde ticari c-ELISA testi ile *N. caninum*'un antikoru bakmışlardır. Araştırma sonucu %13,96 seropozitiflik olduğu belirtilirken, abort geçmişi olan 144 inekte ise %23,61 oranında *N. caninum*'a ait antikoru saptanmıştır. Bu çalışmada prevalansın abortlu ineklerde abort yapmayanlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

**Kurtdede ve ark.** (148), tarafından Ankara yöresinde üç farklı bölgeden 12 abort yapmış, 48 adet abort yapmamış toplam 60 ineğin serum örnekleri alınmıştır. Bu çalışmada sığırdaki neosporosisin serodiagnozu ticari olarak üretilmiş katı fazlı

immunoassay prensibi ile çalışan immunocomb (IC) ile tespit edilmiştir. Abort yapmış 12 inekten 6'sında IC ile belirlenen seropozitiflik bu bölgede neosporosisin abortların önemli bir nedeni olabileceği fikri ortaya konulurken, pratikte IC'nin basit, kolay ve kısa sürede serolojik kontroller için gerek büyük gerekse küçük sürülerde neosporosisin takibi için kullanılabilir bir test olduğu kanısına varılmıştır.

**Yıldız ve ark.** (244) Türkiye'nin 3 farklı ilinde (Kırıkkale, İzmir ve Tokat) yapmış oldukları çalışmada, daha önceden %10 ve üzeri abort oranı görülen 40 farklı çiftlikten abort geçmişi olan inekler (n=234) ile gebe ineklerden (n=323) aldıkları kan örneklerinde *N. caninum*, *T. gondii*, *Brucella abortus* ve *Listeria monocytogenes*'in seroprevalanslarını karşılaştırmışlardır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, *N. caninum*'un seroprevalansı %10,77 (60/557) oranında bulunurken, *T. gondii*, *B. abortus* ve *L. monocytogenes*'in genel seroprevalansı sırasıyla %24,77 (138/557), %13,82 (77/557) ve %42,85 (162/378) oranında tespit edilmiştir. *Neospora caninum* ve *T. gondii* seropozitifliğinin gebe ineklerde abortlu ineklerden daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir (sırasıyla,  $p<0,05$ ,  $p<0,001$ ).

**Kul ve ark.** (147) 2004-2007 yılları arasında yaptıkları çalışmada ise, %18,4 oranında neosporosisle alakalı epidemik abortların yüksek olduğu bir sütçül sığır çiftliğinden planlı bir şekilde 2005 yılında doğmuş 40 düveden, 2006 yılında doğmuş 6 buzağı ve kısır veya abort yapmış 25 inekten kan örnekleri alınmıştır. Çalışmada ticari c-ELISA (VMRD) kullanarak, sığırlarda genel olarak *N. caninum*'un seroprevalansını %46,47 (33/71) oranında saptarken, kısır veya abort yapmış ineklerde %60 (15/25), düvelerde %40 (16/40) ve buzağılarda ise %33,3 (2/6) oranında tespit etmişlerdir. Çalışmada pozitif bulunan 2 buzağının anneleride pozitif bulunurken, seronegatif 4 buzağıdan 3'ünün annesi seropozitif bulunmuştur.

Şanlıurfa yöresinde safkan Arap kısraklarından toplanan 90 serum örneğinde kompetatif ELISA (CI-ELISA) testi ile *N. caninum* antikoru araştırılmıştır. Bu çalışma ile atların 8 (%8,8)'inde *N. caninum* antikoru tespit edilmiştir. Ayrıca bu araştırma ile 15 yaşından büyük kısrakların 10 yaşından küçük kısraklardan daha

yüksek bir seropozitiflik oranına sahip oldukları belirtilerek, yaş ile pozitifliğin arttığı ve pozitif olan kısıraklardan üçünde abort vakası görüldüğü bildirilmiştir (213). **Sevgili ve ark.** (212) tarafından Şanlıurfa yöresinde yapılan bir başka çalışmada ise 1-6 yaş arası toplam 180 adet dişi keçide ticari kompetatif inhibisyon ELISA (CI-ELISA) testi ile *Neospora* enfeksiyonları araştırılmıştır. ELISA test sonuçlarına göre 180 keçinin 9 (%5)'unda *N. caninum* antikoru bulunmuştur. Bu çalışma ile de keçilerde ırk ve yaş grupları arasında seropozitiflik yönünden önemli bir fark olmadığı ortaya konulmuştur.

#### 1.8.4. Ekonomik Önemi

Dünya'nın bazı coğrafik bölgelerinde hayvanlardaki abort vakalarının yaklaşık % 42'sinin *N. caninum*'a bağlı olduğu belirtilmektedir (12,13). Buna direkt kayıplar ve fötüs ölümleri de eklendiğinde hastalığın ekonomik boyutlarının milyonlarca Amerikan Dolarına ulaşabileceği kaydedilmiştir (72,210). Enfeksiyonda abortla bağlantılı direkt ekonomik kayıpların dışında, süt kaybı, enfekte hayvanların tedavi giderleri ve abort yapmış ineklerin elden çıkarılarak yerlerine yeni damızlıkların yetiştirilmesi, et veriminde ve büyümede gerileme gibi bazı indirekt kayıplar da önemli yer tutmaktadır (218,222).

Avustralya'da neosporosisden kaynaklanan ekonomik kaybın, süt sığırcılığında yılda 85 milyon, et sığırcılığında ise 25 milyon Avustralya doları olduğu, Yeni Zelanda'da ise süt endüstrisinde bu kaybın yıllık 17,8 milyon Yeni Zelanda doları olduğu ifade edilmektedir (199). Amerika'nın Kaliforniya eyaletinde *N. caninum* antikoru taşıyan ineklerde süt üretiminde günde yaklaşık 1 kg'lık kaybın olduğu tespit edilmiştir (219). Teksas'da ise et sığırcılık endüstrisinde yıllık 15 ile 24 milyon Amerikan doları olduğu bildirilmiştir (117). Yine Kaliforniya'da yapılan diğer bir araştırmada (71), sığır yetiştiriciliğinde yılda yaklaşık 35 milyon dolarlık bir ekonomik kaybın oluştuğu belirtilmiştir (71).

## 1.9. Korunma ve Kontrol

*Neospora caninum*'un sonkonağı kesin belli olduktan sonra daha etkin korunma yöntemleri geliştirilmeye başlanmıştır. Özellikle enfeksiyon için etkili tedavi yöntemi henüz bulunamadığı için, korunma ve kontrol yöntemlerine daha da dikkat edilmektedir. Son konak olan köpek ve yabani köpekgillerin dışkısı, hayvanların gıda ve sularından uzak tutulmalıdır. Köpeklerin ve yabani köpekgillerin plasenta, abortlu fötüs ve ölü doğmuş buzağuları yemeleri önlenmelidir. Doğal enfeksiyonlar koyun, keçi ve geyiklerde de rapor edildiği için köpeklere bu hayvanların da çiğ eti yedirilmemelidir (72,199).

Enfekte olmayan çiftliklere yeni hayvan girişleri olduğu zaman hayvanlar enfeksiyon yönünden test edilmelidirler. Bir sürüde *N. caninum* enfeksiyonunu engellemenin bir başka yöntemi de seropozitif inekleri seçip ayırmaktır (71). Köpeklerin hayvan yem depolarına ve otlaklara girişi engellenmelidir. Köpeklerin dışkıları ortamdaki uzaklaştırılmalıdır. Kuru yemler (kuru ot, saman, kepek, küspe, yonca, mısır ya da fiğ-arpa silajı gibi) *N. caninum*'un son konakları için av olan rodentleri cezbeder. Dolayısıyla bu tür yem depolarının köpek dışkısıyla kontamine olma riski artacağı düşüncesiyle rodentlerin yem depolarından uzak tutulması için gerekli önlemler alınmalıdır (117).

## 1.10. Aşı

*Neospora caninum*'a karşı etkili bir aşı fetal kayıplar ve vertikal bulaşmaya karşı koruyucu olmalıdır. Nitekim **Andrianarivo ve ark.** (15), POLYGEN™ adjuvanlı ölü *N. caninum* taşıyıcılarını gebe ineklerde gebeliğin 35 ve 63. gününde aşılama kullanmışlardır. İkinci inokülasyondan 4 hafta sonra canlı *N. caninum* taşıyıcıları i.v/ i.m olarak verilmiştir. Aşılama sonrası sığırlarda spesifik humoral ve hücrel immun yanıt gelişmiştir. Fakat gebe ineklerde antikor yanıtında artış gözlenirken, hücrel immun yanıtta artış gözlenmemiştir. Gebe ineklerde uygulanan

bu aşının f3tal enfeksiyonların 3n3ne ge3emediği, yani başarılı bir şekilde koruyucu olmadığı tespit edilmiştir.

Aşı 3alışmaları daha sonra HAVLOGEN adjuvanlı 3l3 taşizoitlerden oluşan Bovilis® Neoguard veya Amerika'da NeoGuard, intervet isimli aşı ticari olarak elde edilmiştir. Bu ticari aşı ilk defa **Choromanski ve ark.** (55) tarafından g3venli bir şekilde kullanılmıştır. Aşı sağlıklı gebe ineklerde gebeliğin ilk 33 ayında subkutan olarak uygulanmış, 3-4 hafta sonra 2. doz yapılmıştır. Daha sonra takip eden her gebelikte aşılama tekrarlanmıştır. Bu aşının enfekte ineklere uygulanması durumunda, abort ihtimalini azalttığı ve buzağıları konjenital enfeksiyonlardan koruduğu ispat edilmiştir. **Romero ve ark.** (202), Kostarika'da bir 3iftlikte toplam 876 hayvan 3zerinde bu ticari aşıyı uygulamışlardır. 3alışma sonucu aşılanmış hayvanlarda abort riskinin %50 azaldığı tespit edilmiştir. Yine **Heuer ve ark.** (124) tarafından Yeni Zelanda'da aynı aşı 3zerine 3alışma yapılmış ve benzer etkiler g3r3lm3řt3r. 2001 yılı sonunda ABD'de Tarım Bakanlığı (USDA, United States Department of Agriculture) tarafından sığır neosporosisi i3in d3nyanın ilk aşısı olarak NeoGuard™'a tam onay verilmiştir (220).

## 2. MATERYAL ve METOT

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Çalışma Alanı

Kars, Türkiye'nin Doğu Anadolu Bölgesi'nin, Erzurum-Kars Bölümü'nde yani Kuzey Doğu Anadolu Bölgesi'nde yer alır. Kuzeyinde; Ardahan, doğusunda; Ermenistan'la, güneyinde; Iğdır ve Ağrıyla, batısında ise Erzurum'la çevrilidir. Kars ili yüksek dağlarla kuşatılmış ve genelde batı-doğu doğrultusunda uzanan akarsularla derin biçimde yarılmış geniş bir plato niteliğindedir. İlin yüzölçümü 10.139 km<sup>2</sup> olup, kuzey kısımlarında Kabak, Kısır ve Akbaba dağları bulunurken, doğu kesiminde Dumanlı dağı yer almaktadır. Güney kesimlerini ise Karasu-Aras dağlarının uzantıları çevrelemektedir. Volkanlardan çıkan lav ve küllerin çevreye yayılması sonucunda geniş yaylalar ve ovalar meydana gelmiştir (225).

Kars yöresinde iklim kışları uzun ve sert, yazları ılımlı hatta serince geçmektedir. Burası Türkiye'de soğukların en bariz olduğu ve uzun sürdüğü yerlerdendir. Bu durumun temel nedenleri; yüksek dağ sıralarıyla denizlerin ılımanlaştırıcı etkisinden ayrılması, yüksekliğin fazla olması, kış mevsiminde büyük asya kara kütlesi üzerinde yerleşen soğuk ve ağır hava kütlesi (Sibirya yüksek basınç merkezi)'nin buraya kadar sokulmasıdır. Merkez ilçeye en az yağış Aralık, Ocak ve Şubat aylarında, en çok yağış ise Mayıs ve Haziran aylarında düşmektedir. Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü'nün Kars iline ait 1975-2008 yıllarını kapsayan aylık ortalama iklim değerleri ile 1975-2009 yılları arasındaki en yüksek ve en düşük sıcaklık değerleri Tablo 2.1'de verilmiştir (129).

**Tablo 2.1- 1975 – 2008/2009 yılları arası verilerine göre Kars ilinde aylık iklim değerleri (129)\***

	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
<b>Ortalama Sıcaklık (°C)</b>	-10.1	-8.6	-2.6	5.6	10.0	13.8	17.6	17.7	13.6	7.1	0.1	-6.5
<b>En Yüksek Sıcaklık Ortalaması (°C)</b>	-4.4	-2.6	2.9	11.7	16.3	20.9	25.8	26.4	22.4	14.7	6.4	-1.3
<b>En Düşük Sıcaklık Ortalaması (°C)</b>	-15.6	-14.4	-8.0	-0.1	3.7	6.7	10.0	9.9	5.4	0.5	-5.0	-11.4
<b>Ortalama Güneşlenme Süresi (saat)</b>	3.0	4.0	5.0	6.1	7.2	9.2	10.4	10.3	8.4	6.3	4.3	2.9
<b>Ortalama Yağışlı Gün Sayısı</b>	9.3	9.9	11.3	13.3	18.3	14.6	10.3	8.4	6.3	9.9	8.0	10.2
<b>Ortalama Yağış Miktarı (kg/m<sup>2</sup>)</b>	19.9	22.1	28.7	52.5	77.7	73.1	51.8	40.4	26.3	43.8	27.0	22.2
<b>En Yüksek Sıcaklık (°C)</b>	8.4	8.8	18.8	25.0	27.0	31.4	35.4	35.4	32.6	26.8	19.0	13.2
<b>En Düşük Sıcaklık (°C)</b>	-31.6	-33.1	-30.2	-18.4	-6.0	-2.8	1.8	1.6	-3.8	-15.8	-29.4	-30.4

\* En yüksek ve en düşük sıcaklık değerleri 1975-2009 yılları arası, diğer değerler 1975-2008 yılları arası verilerine göre dir

Tablo 2.1 incelendiğinde yağışların her mevsim görüldüğü dolayısıyla kurak mevsimin hemen hemen hiç olmadığı görülmektedir.

Şehrin doğal bitki örtüsü bozkırdır. Kars'ın coğrafyası, önemli ekolojik sistemlerden sayılan plato ve dağ çayırlarına ev sahipliği yapmaktadır. Kar örtüsünün altında kalan çayır bitkileri karın erimesiyle birlikte hızlı bir gelişme içerisine girer. Kısa zamanda her taraf çayır ve otlaklarla kaplanır. Bu çayır ve otlaklar yani meralar hayvancılık açısından önemli bir imkân sağlamaktadır (225).

Kars ilinin sosyo-ekonomik durumuna bakıldığında ise, ilin nüfusu, 2009 Adrese Dayalı Nüfus Kayıt Sistemi sonuçlarına göre 306,536 kişidir. Nüfusun 126,127 (%41) kişisi şehirde yaşarken, 180,409 (%59) kişisi belde ve köylerde yaşamaktadır. Yine aynı nüfus sayımı sonucuna göre, il merkezi nüfusu 76,729, ilin nüfus yoğunluğu ise km<sup>2</sup> başına 30 kişidir. Kars'daki ilçe sayısı 7, belediye sayısı 10

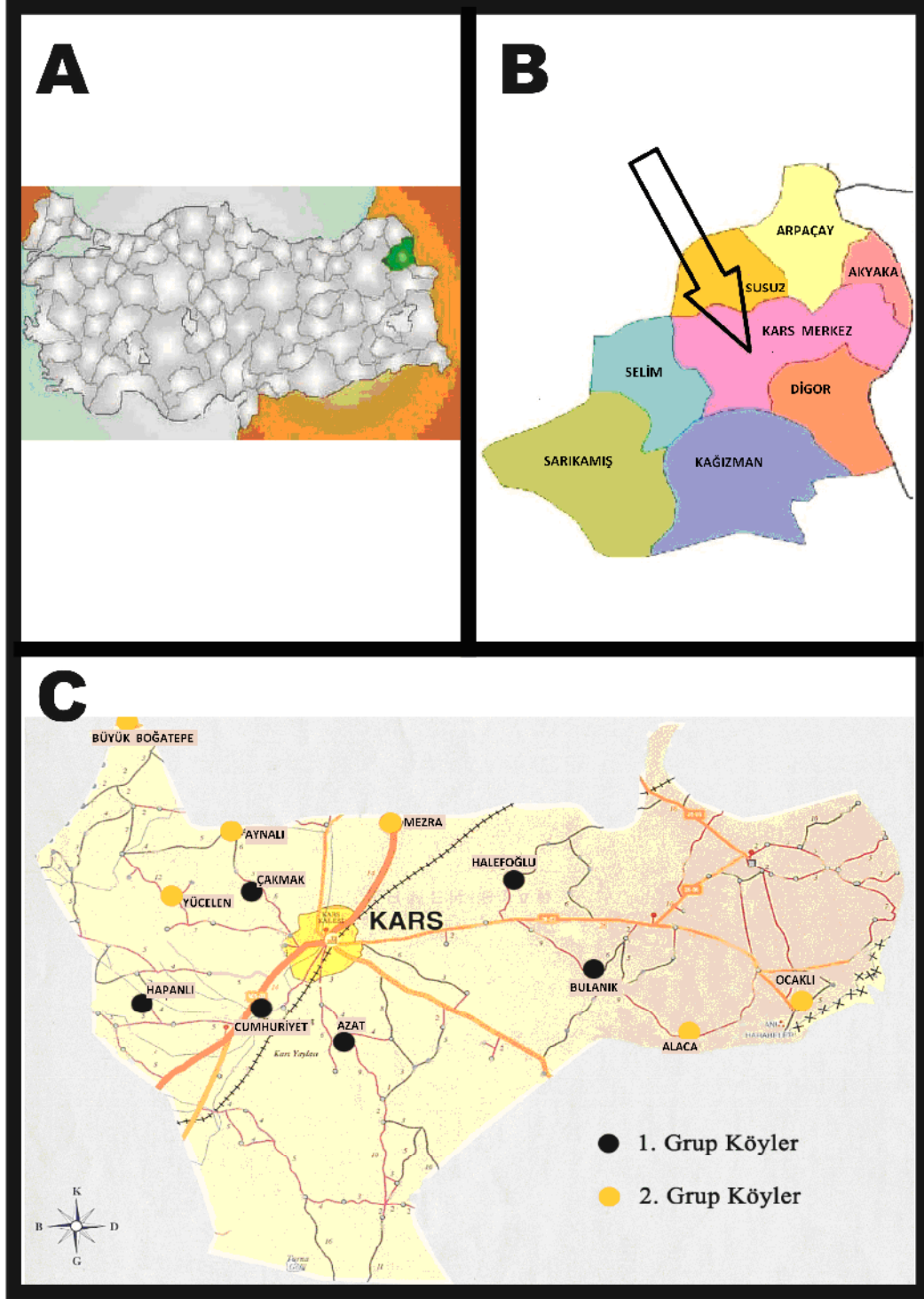


ve köy sayısı ise 384'dir. Kars merkez ilçeye bağlı 71 köy olup, yüzölçümü 1,384 km<sup>2</sup>'dir. İlçe toprakları orta yükseklikte engebeli araziden meydana gelir. Kuzey ve batısında Allahüekber dağları yer alır. Başlıca akarsuyu Kars çayıdır. Kent merkezi, Kars çayı kenarında kurulmuştur (225).

İlin ekonomisi çok büyük bir oranda tahıl tarımı ve geleneksel mera hayvancılığına dayalıdır. İlde çayır ve meralar il topraklarının yaklaşık üçte birini (%39.2) kaplamakta olup, bu durum ilde hayvancılığı (küçük ve büyükbaş) teşvik eden bir unsur olmaktadır. Modern yöntemlerle hayvancılık ise pek gelişmemiştir. Tarımsal üretimde temel iktisadi sektör olan hayvancılık yaklaşık %75, bitkisel üretim ise %25 orana sahiptir. İl ekonomisinde bu denli ağırlığı olan hayvancılık, genellikle küçük aile işletmeciliği şeklinde ve aile ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla yapılan ekonomik bir faaliyet durumundadır (225).

Kars ili 2009 yılı verilerine göre sahip olduğu 402,967 adet büyükbaş hayvan mevcudu ile Türkiye toplamının %3,76'sına sahip bulunmaktadır. Türler açısından ise Kars, ülkedeki kültür türü hayvanların %0,43'üne, kültür melezi sığırların %2,93'üne, yerli ırk sığırların ise %9,93'üne sahiptir. Kars'taki yerli ırk hayvanların Türkiye yerli ırk varlığı içindeki oransal büyüklüğü dikkat çekmektedir. Bu rakam dahi Kars hayvancılığındaki verimin ülkedeki ortalama verimden düşük olmasını açıklar niteliktedir (225).

Bu araştırmanın coğrafi alanını, Kars merkez ilçeye bağlı 12 köy oluşturmuştur. Bunlar ithal hayvanların veya jenerasyonlarının girdiği Azat, Bulanık, Cumhuriyet, Çakmak, Halefoğlu ve Hapanlı köyleri ile ithal hayvanların veya jenerasyonlarının girmediği Alaca, Aynalı, Büyük Boğatepe, Mezra, Ocaklı ve Yücelen köyleridir (Şekil 2.1).



Araştırmanın yürütüldüğü köyler, nüfusları, büyük baş hayvan sayıları ve coğrafi konumları Tablo 2.2.'de verilmiştir.

**Tablo 2.2 - Araştırmanın yürütüldüğü köylerin nüfusları, büyük baş hayvan sayıları ve coğrafi konumları**

Köyler	Hane Sayısı	Nüfusu	B.Baş Hayvan Varlığı	Doğu sınırı	Batı sınırı	Kuzey sınırı	Güney sınırı	Koordinatları
<b>Azat</b>	81	397	1000	Mağaracık	Cumhuriyet	Karacaören	Gelirli-Karakale	40° 32' 05.73" Kuzey-43° 07' 10.80" Doğu
<b>Bulanık</b>	38	114	600	Hacıveli-Eşmeyazı	Ölçülü	Yalınkaya-Keçebörk Yaylası	Söğütlü-Yeniköy	40° 33' 38.48" Kuzey-43° 21' 38.24" Doğu
<b>Cumhuriyet</b>	161	868	1800	Azat-Karacaören	Kümbetli	İl Merkezi	Akbaba-Gelirli	40° 31' 03.71" Kuzey-43° 02' 48.52" Doğu
<b>Çakmak</b>	205	906	1700	İl Merkezi-Boğazköy	Yücelen-Hasçiftlik	Çamurlu	İl Merkezi	40° 38' 38.82" Kuzey-43° 03' 15.72" Doğu
<b>Halefoğlu</b>	293	2536	4000	Duraklı- Y Ortagedik Y Başgedik Y Kuyucuk Y	Mezra	Yolboyu-Akçakale	Yalınkaya	40° 39' 20.71" Kuzey-43° 17' 37.64" Doğu
<b>Hapanlı</b>	38	185	500	Bozkale-Kümbetli	Aydıncalan-Başkaya	Güdeli	Çağlayan	40° 34' 28.55" Kuzey-42° 55' 23.61" Doğu
<b>Alaca</b>	99	449	1500	Üçbölük	Oyuklu	Kozluca	Köseler	40° 29' 16.43" Kuzey; 43° 29' 59.73" Doğu
<b>Aynalı</b>	41	301	744	Boğazköy	Ortalar	İncesu	Çamurlu	40° 42' 35.20" Kuzey; 43° 04' 21.28" Doğu
<b>B.Boğatepe</b>	59	241	1700	K.Çatak-Doyumlu	K.Boğatepe	Ardahan İli	Alçılı-Davulköy	40° 41' 48.96" Kuzey-42° 51' 43.27" Doğu
<b>Mezra</b>	104	572	1600	Küçükzayım	Boğazköy	Çamçavuş	İl Merkezi-Halefoğlu	40° 42' 24.81" Kuzey-43° 10' 27.65" Doğu
<b>Ocaklı</b>	116	684	1600	Ermenistan Sınırı	Söğütlü-Kozluca	Esaenkent-Arazoğlu	Ermenistan Sınırı-Üçbölük	40° 30' 26.19" Kuzey-43° 34' 12.79" Doğu
<b>Yücelen</b>	59	336	1400	Çakmak	Çığırın	Alçılı-Akdere-Çamurlu	Karaçoban-Hasçiftlik	40° 39' 17.75" Kuzey-42° 57' 32.30" Doğu

### 2.1.1.1. İthal Sığırların veya Jenerasyonlarının Girdiği Köyler

**Azat** köyü, il merkezine 6 km uzaklıktadır. Köyün nüfusu 397 olup, hane sayısı 81'dir. Köyün ekonomisi tarım ve hayvancılığa dayalıdır. Köyün büyükbaş hayvan sayısı ise 1000 civarındadır.

**Bulanık** köyü, il merkezine 26 km uzaklıktadır. Nüfusu 114'ü geçen ve 38 haneli bir köydür. Köyün ekonomisi tarım ve hayvancılığa dayalıdır. Büyük baş hayvan sayısı yaklaşık 600 civarında olup, simental ırk sığır yetiştiren köylüler bugün Kars'taki saf ırk simental sığırın olduğu tek köydür. Son teknolojik sistemle hayvancılık yapan köylüler birde dernek kurup tarım ve hayvancılığı daha ileriye taşımak için her geçen gün daha çok çalışıyorlar.

**Cumhuriyet** köyü, il merkezine 10 km uzaklıktadır. Köyün nüfusu 868 olup, hane sayısı 161'dir. Köyde beslenen büyük baş hayvan sayısı 1800 civarındadır. Köyün ekonomisi tarım ve hayvancılık olup, beraberinde inşaat işi ile de uğraşmaktadırlar.

**Çakmak** köyü, il merkezine 6 km olup, son nüfus sayım verilerine göre 1000 civarında bir nüfusa sahiptir. Köyde hane sayısı 205 kadar olup, beslenen hayvan sayısı ise 1700 civarındadır. Köyün geçim kaynağı tarım ve hayvancılık olup, mandıracılıkla uğraşmaktadırlar. Yücelen, Haşçiflik, Boğazköy ve Çamurlu köyleri ile sınırları bulunmaktadır.

**Halefoğlu** köyü, il merkezine 15 km uzaklıktadır. Resmi kayıtlara göre ithal hayvanların girdiği köylerden biridir. Halefoğlu köyü, Köyün iklimi, karasal iklimin etki alanı içerisinde. Kışları kurak ve sert, yazları ise yağışlı geçer. Halefoğlu, 2500'ü geçen nüfusu ve 293 hanesiyle bu ilin en büyük köylerindedir. Köyün ekonomisi tarım ve hayvancılığa dayalıdır. Özellikle arpa, buğday ve yonca yetiştirilmektedir. Köyde büyükbaş hayvan sayısı 4000 civarındadır. Köyde ayrıca köy sütünü işleyen bir mandıra mevcuttur. Köyün batısında Kars Merkez, kuzeyinde Harmanlı ve Büyükçatma köyleri, doğuda Subatan köyü, güneyinde ise Yalınkaya ve Ölçülü köyleri yer almaktadır.

**Hapanlı** köyü, il merkezine 19 km uzaklıktadır. Köydeki hane sayısı 38 olup, nüfus oranı 185'dir. Köyün geçim kaynağı tarım ve hayvancılık olup, büyük baş hayvan sayısı 500 kadardır.

#### 2.1.1.2. İthal Sığırların veya Jenerasyonlarının Girmedığı Köyler

**Alaca** köyü, il merkezine 45 km uzaklıktadır. Nüfus oranı 449 olup, hane sayısı 99'dur. Üçbölük, Oyuklu, Kozluca ve Köseler köyleri ile sınır olan bu köyde ki büyük baş hayvan sayısı 1500 civarındadır.

**Aynalı** köyü, Kars'ın Susuz ilçesi ile merkezi arasındadır. Köyün il merkezine uzaklığı 18 km'dir. Köyde ki hane sayısı 41 olup, nüfus yoğunluğu 301'dir. Başlıca geçim kaynakları tarım ve hayvancılık olup, büyük baş hayvan sayısı 744'dür.

**Büyük Boğatepe** köyü, il merkezine 40 km uzaklıktadır. Nüfusu 241 olup, hane sayısı 59'dur. Köyün geçim kaynağı tarım ve hayvancılık olup, büyük baş hayvan sayısı 1700 civarındadır. Köyde ayrıca köy sütünü işleyen bir mandıra mevcuttur. Kaşar ve gravyer peynir yapımı yönünden ilde bulunan en iyi köylerden biridir.

**Mezra** köyü, Kars-Susuz karayolunun kenarında kurulmuş olup, il merkezine 15 km uzaklıktadır. Son nüfus sayımına göre 572 olup, hane sayısı 104'dür. Köyün ekonomisi tarım ve hayvancılığa dayalıdır. Mezra köyündeki büyük baş hayvan sayısı 1600 civarındadır.

**Ocaklı** köyü, il merkezine uzaklığı 47 km olup, Türkiye- Ermenistan sınırına yakın Arpaçay nehri kenarında konumlanan eski bir yerleşim yeridir. Köyün nüfus

oranı 636 olup, hane sayısı 135'dir. Ani harabelerinin köyde bulunması köye turizm açısından avantaj sağlamıştır.

**Yücelen** köyü, il merkezine 15 km uzaklıktadır. Yer şekilleri bitki örtüsü açısından tarım ve hayvancılığa oldukça elverişli bir konuma sahiptir. Köyde büyük baş hayvan sayısı ise 1400 civarındadır. Köy büyük bir yüzölçümüne sahip olup yer şekilleri açısından etrafı sıra dağlarla çevrili geniş bir ova üzerinde bulunmaktadır. Nüfus yoğunluğu 336 olup, hane sayısı 59'dur.

### 2.1.2. Çalışma Grupları

Kars yöresinde çiftlik hayvanlarında verimliliği artırmak maksadıyla 1992-1996 yıllarında yurt dışından ithal edilen (ağırlıklı olarak simental ırkı) sığırların girdiği ve resmi kayıtlara göre ithal sığırların girmediği köylerden Kars yöresini temsilen, toplam 10 odak random usulüyle belirlendi. Bu odaklar Mart 2008 ile Haziran 2009 tarihleri arasında planlanlı bir şekilde ziyaret edildi. Fakat bazı odaklarda hayvan sahiplerinin izin vermemesinden dolayı planlanmış olan toplam 1000 (500+500) sığırdan kan örneği ile 150 (75+75) köpekten dışkı ve kan örneği alınamadı. Bundan dolayı köy sayısı artırılarak her grupta 6 odak olacak şekilde merkeze bağlı toplam 12 odak seçildi (Tablo 2.3). Tablo 2.3'te görüldüğü üzere bu odaklardan alınan 1100 (600+500) sığıra ve 210 (101+109) köpeğe ait kan örnekleri ve bu odaklardan alınan 125 (59+66) köpeğe ait dışkı örneği araştırmanın materyalini oluşturdu. Kan örneği alınan sığırların ırk ve yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 2.4'te ve kan örneği alınan köpeklerin yaş, cinsiyet ve ırka göre dağılımı ise Tablo 2.5'te gösterilmiştir.

Tablo 2.3 - Yerleşim yerlerine göre materyal toplanan sığır ve köpek sayıları

Köy Grupları	Köyler	Kan alınan sığır sayısı	Kan alınan köpek sayısı	Dışkı alınan köpek sayısı
İthal Hayvanların Girdiği Köyler (Grup-1)	Azat	100	15	7
	Bulanık	100	24	11
	Cumhuriyet	100	18	15
	Çakmak	100	16	10
	Halefoğlu	100	13	12
	Hapanlı	100	15	4
	<b>6 köy topl.</b>	<b>600</b>	<b>101</b>	<b>59</b>
İthal Hayvanların Girmedikleri Köyler (Grup-2)	Alaca	46	15	13
	Aynalı	90	24	6
	Büyük Boğatepe	100	16	16
	Mezra	100	20	18
	Ocaklı	100	21	7
	Yücelen	64	13	6
	<b>6 köy topl.</b>	<b>500</b>	<b>109</b>	<b>66</b>
<b>Genel Toplam</b>	<b>12 köy topl.</b>	<b>1100</b>	<b>210</b>	<b>125</b>

Tablo 2.4- Kan alınan sığırların ırk ve yaş gruplarına göre dağılımı

Köy Grupları	Köyler	İ.S.	Y.S.	<1	1-3	>3	Topl.
İthal Hayvanların Girdiği Köyler (Grup-1)	Azat	23	77	6	32	62	100
	Bulanık	75	25	8	42	50	100
	Cumhuriyet	48	52	28	23	49	100
	Çakmak	58	42	26	18	56	100
	Halefoğlu	29	71	9	31	60	100
	Hapanlı	44	56	17	20	63	100
	<b>6 köy topl.</b>	<b>277</b>	<b>323</b>	<b>94</b>	<b>166</b>	<b>340</b>	<b>600</b>
İthal Hayvanların Girmedikleri Köyler (Grup-2)	Alaca	0	46	-	23	23	46
	Aynalı	0	90	9	9	72	90
	B.Boğatepe	0	100	18	11	71	100
	Mezra	0	100	18	24	58	100
	Ocaklı	0	100	21	25	54	100
	Yücelen	0	64	-	18	46	64
	<b>6 köy topl.</b>	<b>0</b>	<b>500</b>	<b>66</b>	<b>110</b>	<b>324</b>	<b>500</b>
<b>Genel Toplam</b>	<b>12 köy topl.</b>	<b>277</b>	<b>823</b>	<b>160</b>	<b>276</b>	<b>664</b>	<b>1100</b>

İ.S.= ithal sığırlar ve jenerasyonları; Y.S.= yerli sığırlar; <1, 1-3, >3= yıl olarak yaş gurupları

**Tablo 2.5- Kan alınan köpeklerin yaş gruplarına, cinsiyet ve ırka göre dağılımı**

Köy Grupları	Köyler	1-5*	6-10*	Dişi	Erkek	Saf**	Melez	Toplam
<b>İthal Hayvanların Girdiği Köyler (Grup-1)</b>	Azat	13	2	4	11	8	7	15
	Bulanık	20	4	1	23	12	12	24
	Cumhuriyet	15	3	4	14	6	12	18
	Çakmak	11	5	5	11	9	7	16
	Halefoğlu	13	-	2	11	-	13	13
	Hapanlı	12	3	5	10	7	8	15
	<b>6 köy topl.</b>	<b>84</b>	<b>17</b>	<b>21</b>	<b>80</b>	<b>42</b>	<b>59</b>	<b>101</b>
<b>İthal Hayvanların Girmedikleri Köyler (Grup-2)</b>	Alaca	12	3	-	15	4	11	15
	Aynalı	22	2	3	21	3	21	24
	B.Boğatepe	14	2	6	10	6	10	16
	Mezra	17	3	6	14	7	13	20
	Ocaklı	16	5	1	20	8	13	21
	Yücelen	10	3	2	11	9	4	13
	<b>6 köy topl.</b>	<b>91</b>	<b>18</b>	<b>18</b>	<b>91</b>	<b>37</b>	<b>72</b>	<b>109</b>
<b>Genel toplam</b>	<b>12 köy topl.</b>	<b>175</b>	<b>35</b>	<b>39</b>	<b>171</b>	<b>79</b>	<b>131</b>	<b>210</b>

\* 1-5, 6-10= yıl olarak yaş gurupları

\*\* Kafkas çoban köpeği, Kangal, İngiliz setter, Akbaş ırkları

### 2.1.3. Kan ve Dışkı Örneklerinin Toplanması

Çalışma yöresinde seçilen odaklara yapılan ziyarette öncelikle hayvan sahiplerinin izinleri alındı. Sığır sahiplerinden kan alınan hayvanların kulak numaraları, yaşları, ırkları ve geçmişlerinde neosporiosise atfedilebilecek bulguları gösterip göstermediklerine ilgili sorular soruldu. Sığırlardan kan vacutainer serum tüplerine 5 ml kadar kan alındı. Köpek sahiplerinden örnek alınan hayvanların yaşları, ırkları, geçmişlerinde neosporiosise atfedilebilecek bulguları gösterip göstermedikleri ile ilgili sorular, tedavi veya koruyucu amaçla ilaç uygulanıp uygulanmadığı, ahır ve yemliklere girip girmedikleri, bağlı olup olmadıkları, atıklı fötüs, sakatat yedirilip yedirilmediği soruldu. Köpeklerden yaklaşık 5 ml kan enjektörle tüplere alındı. Aynı zamanda hayvanın rektumundan ya da barınağında tek olan hayvanın taze dışkısı yerden direkt olarak yaklaşık 10-15 gr olacak şekilde



alınarak dışkı poşetine konulup etiketlendi. Kan örneği alınan köpeklerin bir kısmından karşılaşılan bazı sıkıntılardan (ziyaret edildiği dönemlerde havanın çok soğuk olması, sahipleri tarafından tam anlamıyla hayvanın sıkıca tutulamaması ve hayvana yöresel ismi ile “şirat” denilen peynir altı suyunun yiyecek olarak verilmesi, bununda köpekte ishale neden olup bağırsaklarının boş olması gibi nedenlerden dolayı dışkı örneği alınamadı.

Alınan örnekler Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi. Kan örnekleri 1 000 g’de de 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı, plastik mikro-tüplere konularak etiketlendi. Serumlar test edilinceye kadar -20 °C’de derin dondurucuda saklandı. Dışkı örnekleri ise, inceleninceye kadar 4 °C’de muhafaza edildi.

#### **2.1.4. Laboratuvar Malzemeleri**

##### **2.1.4.1. ELISA’da Kullanılan Malzemeler**

- Çok kanallı otomatik pipetler
- Tek kanallı otomatik pipetler
- Otoklavlanabilir şişe
- Pipet uçları
- Laboratuvar saati
- Kağıt havlu
- Aliminyum folyo
- ELISA reader (ELISA okuyucusu)

#### 2.1.4.2. IFAT'ta Kullanılan Malzemeler

- Çok kanallı otomatik pipetler
- Tek kanallı otomatik pipetler
- Otoklavlanabilir şişe
- Pipet uçları
- 24 x 50 mm ebatında lameller
- Dilüsyon için test tüpleri veya ELISA mikroplakları
- Laboratuvar saati
- Kağıt havlu
- Floresan kaynaklı mikroskop (Olympus BX50)
- Etüv veya 37 °C'lik su banyosu

#### 2.1.4.3. Dışkı Muayenesinde Kullanılan Malzemeler

- Plastik dışkı kapları
- Cam ve plastik bagetler
- Pens
- Süzgeç
- Lam ve lamel
- Pastör pipeti
- Petri kutuları
- Beherler
- Santrifüj tüpü
- Santrifüj

- Işık mikroskop
- Hassas terazi
- Buzdolabı

### 2.1.5. Kimyasal Maddeler

- Doymuş şekerli su solüsyonu (550 g şeker + 6,5 g eritilmiş fenol + 355 ml distile su)
- Fizyolojik tuzlu su (%0.09 NaCl solüsyonu)
- Potasyum dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ )
- Distile veya deiyonize su

### 2.1.6. Fotoğraf Çekiminde Kullanılan Malzemeler

Dışkı örneklerinden hazırlanan preparatlarda görülen *N. caninum* benzeri ookistlere ait fotoğraf çekimleri Nikon Eclipse-E600 mikroskobuna bağlı Nikon Coolpix P5100 dijital fotoğraf makinası ile yapıldı.

## 2.2. Metot

### 2.2.1. Kompetitif inhibisyon ELISA (CI-ELISA)

Sığır serumlarında, *N. caninum*'a karşı oluşan antikorları belirlemek amacıyla ticari kompetitif inhibisyon ELISA (CI-ELISA) kiti\*, kullanıldı. Bu test kitinin sensitivitesi (%97.6) ve spesifitesi (%98.6) olup (32,33), ELISA plaklarındaki

---

\* *Neospora caninum* Antibody Test Kit, cELISA, USDA Product Code 5N05.20  
VMRD, Inc., Veterinary Medical Research and Development, Pulman, WA, USA.

kuyucuklar parçalanmış *N. caninum* taşızoit antijeni ile kaplanmıştır. *Neospora caninum*- spesifik monoklonal antikor da Horseradish peroksidaz enzimi ile işaretlenmiştir. Serum örneğinde antikor varsa spesifik bir kompleks oluşturmak için enzim bağlı antikor ve antijen kaplı kuyu tarafından bağlanır. Substrat solüsyonu eklenir. Serum örneklerinde renk oluşumunun varlığı *N. caninum* antikorunun yokluğuna, renk oluşumunun yokluğu ise *N. caninum* antikorunun varlığının göstergesidir.

#### **CI-ELISA Test Kiti içerisinde;**

- Antijen kaplı 96 numunelik plaklar (5x96 yüzey)
  - 3,6 ml pozitif kontrol
  - 3,6 ml negatif kontrol
  - 500 µl 100X antikor-peroksidaz konjugat
  - 60 ml konjugat sulandırıcı buffer
  - 2x120 ml yıkama buffer (10X Konsantre yıkama solüsyon)
  - 60 ml substrat solüsyon
  - 60 ml stop solüsyon
- bulunmaktadır.

#### **2.2.1.1. ELISA Testinin Yapılışı**

Testin uygulaması, kit uygulama talimatındaki\* prosedüre göre yapıldı. Önce çalışılacak sığır serum örnekleri derin dondurucudan ve kullanılacak malzemeler (CI-ELISA kitleri) buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığında bekletildi. Test edilecek serum örnekleri çözüldükten sonra vorteks'den geçirildi. Çalışmada kullanılacak solüsyonlar kitte belirtildiği şekilde hazırlandı.

---

\* [http://www.vmr.com/docs/tk/Neospora/Neospora\\_cELISA\\_2\\_and\\_5\\_plates\\_051027.pdf](http://www.vmr.com/docs/tk/Neospora/Neospora_cELISA_2_and_5_plates_051027.pdf)

ELISA mikropalakların (96 gözlü) 4 gözüne (dublike=çift) pozitif ve negatif kontrol serumları ve her bir çukuruna vorteks'ten geçirilmiş sığır serum örnekleri 50 µl olacak şekilde konuldu (Kontrol serum örnekleri çıkarıldığı zaman her bir ELISA plaklarında 92 serum örneği işlendi). Plaklar oda ısısında (21-25 °C, 70-77 °F) üzerleri aliminyum folyo ile kaplanarak 1 saat inkübasyon için bekletildi ve bu sürenin bitiminde mikropalaklardaki serum örnekleri silkelenerek, kağıt bir havlu üzerinde ters çevrilip yavaşça vurularak boşaltıldı. Daha sonra çok kanallı pipetler kullanılarak 3 kez 5'er dakikalık yıkama işlemi uygulandı. Her yıkama sonrası mikropalaklar silkelenerek ve kağıt havlu üzerinde ters çevrilip yavaşça vurularak boşaltıldı. Yıkama işleminden sonra 1 µl/99 ml oranında sulandırılmış konjugat (Antibody-Peroxidase Conjugate) her bir çukura 50 µl olacak şekilde konuldu. Kuyucukların dip kısmının konjugat ile tamamen kaplı olduğundan emin olmak için birkaç kez plakların kenarından hafifçe vurularak, oda ısısında üzeri aliminyum folyo ile kaplanarak 20 dakika inkübe edildi. Bu sürenin bitiminde tekrar yukarıda tarif edildiği gibi yıkama işlemi yapıldı.

Yıkama işleminden sonra plakların her bir çukuruna 50 µl olacak şekilde substrat solüsyonu konuldu. Yine aynı şekilde substrat ile tam kaplanması için plakların kenarından hafifçe vurularak, oda ısısında güneş ışığından uzak, karanlık bir ortamda 20 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası her bir çukura 50 µl stop solüsyonu ilave edilerek, enzim-substrat reaksiyonunun durması sağlandı. Reaksiyon sonucu oluşan renk değişimi otomatik bir ELISA okuyucusu ile (Molecular devices SPECTRAMax PLUS-384) 620 nm dalga boyunda okundu ve absorbans değerleri kaydedildi.

### 2.2.1.2. Testin Değerlendirilmesi

Test sonuçları % inhibisyon değeri olarak kit prosedüründe belirtilen aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$\text{Inhibisyon (\%)} = 100 - [ (\text{Örneğin O.D} \times 100) / \text{Ortalama Negatif Kontrol O.D.} ]$$

Bu hesaplama sonucunda test örneği inhibisyon değeri  $\geq$  % 30 inhibisyona neden oluyorsa sonuç pozitif  $<$  % 30 inhibisyon ise negatif kabul edildi.

### 2.2.2. İndirekt Fluoresan Antikor Testi (IFAT)

Köpek serum örneklerinde ticari indirekt floresan antikor testi (IFAT) kiti\* kullanıldı. Bu testin sensitivitesi %98 ve spesifitesi %99 olup (81), IFAT slaytlarındaki her bir kuyucuk *N. caninum*'un fikse edilmiş taşıyıcı antijenleri ile kaplanmıştır. Serum örneklerinde *N. caninum*'a ait IgG antikorlarının varlığını tespit etmek için kullanılmıştır. IFAT için gerekli olan Floresan kaynaklı mikroskop üniversitemizde bulunmadığı için bu test Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Araştırma Enstitüsü Salgın Hastalıklar Bölümü Parazitoloji Laboratuvarında çalışılmıştır.

#### **IFAT kiti içerisinde;**

Substratlı slaytlar (10x12)

2,5 ml IgG Konjugat (FITC işaretli rabbit anti-canine IgG)

0,5 ml pozitif kontrol

---

\* *Neospora caninum* IFA, Canine IgG Antibody Kit, Catalog No: NCD-120  
Fuller Laboratories, California, USA

0,5 ml negatif kontrol

1 ml Kaplama solüsyon (Mounting Medium) (PBS içinde %50 gliserol)

1 litre Yıkama solüsyonu (PBS)

bulunmaktadır.

### 2.2.2.1. IFA Testinin Yapılışı

Testin uygulanması, kit uygulama talimatındaki\* prosedüre göre yapıldı. Köpek serumları bir gün öncesinden derin dondurucudan çıkarılarak çözülmesi için buzdolabına konuldu. Kitten çıkan toz PBS 1000 ml'lik otoklavlanabilir şişeye boşaltıldıktan sonra, üzerine 1000 ml distile su eklenerek PBS hazırlandı. Manyetik bir karıştırıcıda iyice karışması sağlandı. Buzdolabından test edilecek köpek serumları çıkarılarak oda ısısında biraz bekletildi. Tamamen çözülen köpek serumları önce vortekslenerek 1/16 tarama dilüsyonu hazırlandı. Aynı zamanda pozitif kontrol serum da 1/16'da dilüe edildi. Dilüe edilmiş serumlardan 10 µl alınarak IFA slaytlarında her bir kuyucuğa konuldu. Aynı zamanda her lama negatif ve pozitif kontrol serumlar da eklendi. Her bir IFA lamında 12 kuyucuk olup kontroller çıkarıldığında 10 tane serum işlenmiş oldu.

Slaytlar, içinde ıslak havlu bulunan bir saklama kabında etüve yerleştirilerek 37 °C'de 30 dak. inkübe edildi. Bu sürenin bitiminde inkübatörden çıkarılan slaytlar 45°'lik açı ile içleri boşaltıldıktan sonra içinde distile su bulunan bir piset yardımıyla yavaş bir şekilde yıkandı. Ardından slaytlar, içinde PBS bulunan şalenin içine yerleştirilerek 5 dakika bekletildi. Şalenin içindeki PBS boşatılarak tekrar PBS konuldu. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Sonra PBS kalıntısını tamamen gidermek için slaytlar distile su ile yavaş bir şekilde yıkandı ve kurumaya bırakıldılar.

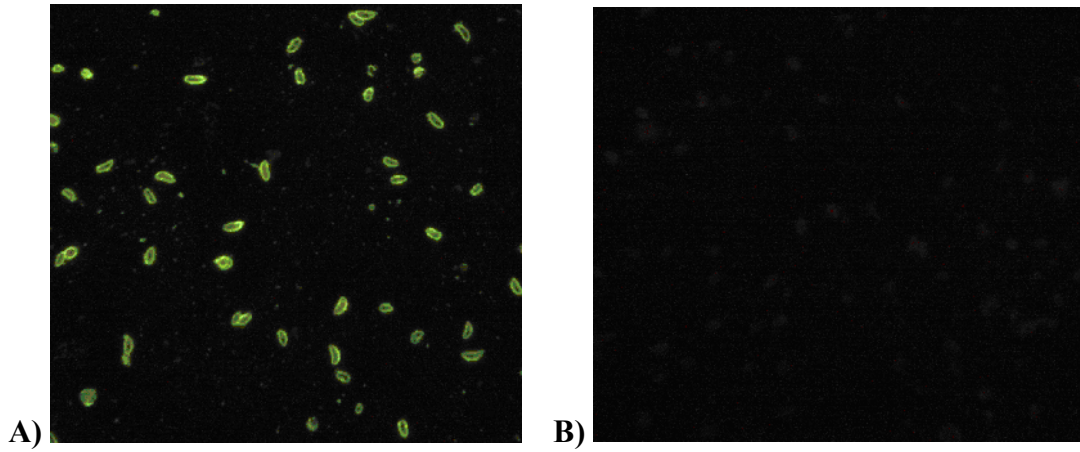
---

\* <http://www.fullerlaboratories.com/files/25941260754107NCD-120-English.pdf>

Kuruyan IFA lamalarında çukurlara 1'er damla (10-15 µl) konjugat (FITC-işaretli rabbit anti-canine IgG) damlatıldı. Nemli ortama tekrar konularak, 37 °C'de 30 dak. etüvde inkübe edildi. Süre bitiminde slaytlar daha önce tarif edildiği şekilde tekrar yıkandı ve kurumaya bırakıldı. En son olarak kaplama solüsyonundan (Mounting Medium) (PBS içinde %50 gliserol içerir) 1'er damla her bir çukura koyduktan sonra üzeri 24x60 mm ebatındaki lamelle kapatıldı. Pozitif ve negatif kontrol kuyucukların görünümü ve yoğunluğuna göre her bir kuyucuk X40 büyütmeyle substratlı IFAT slaytları Olympus BX50 floresan kaynaklı mikroskopta okundu.

#### 2.2.2.2. Testin Değerlendirilmesi

IFA testinde seropozitivite için parlak sarı-yeşil floresans veren sulandırımalar dikkate alındı, hiç floresan vermeyenler ise negatif olarak değerlendirildi (Şekil 2.2). 1/16 ve üzeri sulandırımalarda elde edilen reaksiyonlar pozitif olarak kabul edildi.



**Şekil 2.2- IFA Testinde pozitif (A) ve negatif (B) sonuç**

(Pozitif sonuçta *N.caninum* taşızoitleri parlak floresans verirken negatifte floresans görülmüyor)



### **2.2.3. Dışkı Muayenesi**

#### **2.2.3.1. Nativ Dışkı Muayenesi**

Çalışmada toplanan köpek dışkı örneklerinde ookist varlığının tespiti amacıyla, öncelikle nativ muayene yöntemi uygulanmıştır. Nativ muayene için pirinç tanesi büyüklüğündeki dışkı örneği pensle alınıp lam üzerine konuldu ve 1-2 damla serum fizyolojik eklenerek cam baget yardımıyla ezildi. Partiküllü kısımlar kenara çekilerek homojen karışımın üzeri lamel ile kapatılarak ışık mikroskobunda (X10 ve X40 büyütmede) incelendi.

#### **2.2.3.2. Sheather'in Yoğun Şekerli Su ile Yüzdürme Yöntemi**

Köpek dışkı örnekleri aynı zamanda standart sheather'in yoğun şekerli su solüsyonu (550 g şeker + 6,5 g eritilmiş fenol + 355 ml distile su) ile yüzdürülerek zenginleştirme yöntemi ile de incelendi (109).

Ceviz büyüklüğünde (yaklaşık 5 gram) alınan bir miktar dışkı plastik kap içerisine kondu ve üzerine bir miktar çeşme suyu eklenerek cam baget yardımı ile homojen hale gelinceye kadar karıştırıldı. Homojen hale gelen bu süspansiyon çay süzgeci ile ikinci bir plastik kaba süzüldü. Elde edilen süspansiyon süpernatant kısmı berraklaşınca kadar birkaç kez yıkama işlemine tabi tutuldu. En son sedimentin üzerine yoğun şekerli su solüsyonu ilave edilerek, yüzdürme işlemi uygulandı. Yüzdürülen lamellerin alt yüzeyindeki damla düşürülmeden lam üzerine alındı ve Eclipse-E600 mikroskopta incelendi. Ookistlerin ölçüm ve morfolojik özellikleri değerlendirildi ve mikroskoba bağlı Nikon Coolpix P5100 dijital fotoğraf makinası ile fotoğrafları çekildi.

#### 2.2.4. Dışkıdaki Ookistlerin Purifikasyonu ve Sporlandırılması

Toplanan dışkı örneklerinde varlığı saptanan *N. caninum*-benzeri ookistlerin teşhisinde yararlanılan morfolojik özellikleri ile ölçülerinin belirlenebilmesi amacıyla sporlandırma işlemine başvuruldu. Dışkı flotasyonunun mikroskopik muayenesinden sonra dışkı örneklerinde bulunan *N. caninum*- benzeri ookistleri toplamak için geriye kalan dışkı örneğinden 5 gr yeniden alınarak yüzdürme işlemi tekrar yapıldı. Bu şekilde ookistler ikinci bazen üçüncü kez yüzdürme işlemine tabi tutuldu. Yüzeyde biriktirilen ookistleri bir araya getirmek için bir pipet yardımıyla ookist içeren yüzdürme solüsyonunun en üst kısmı aspire edildi. Toplanan solüsyon birkaç kez distile su ile süpernatant kısmı berraklaşınca kadar 1200 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Bir volüm sediment 10 volüm Sheather'in solüsyonu ile karıştırılıp, 1200 g'de 10 dakika tekrar santrifüj edildi. Ookist içeren süpernatantın en üst kısmı bir pipetle aspire edilerek, 2 kez su ile yıkandı. Saflaştırılan ookistler oksijen geçimini engellemeyecek geniş ağızlı plastik kaplar, petri kutuları ve beherler içerisine aktarıldı. Düzenli aralıklarla cam bağetler yardımıyla karıştırılmak suretiyle laboratuvarında sporlandırılmaya bırakıldı (109). Sporlanma sürecinde ve saklama esnasında ortamdaki oksijenin tükenmesine neden olan mikrobiyel üremenin kontrol altına alınması için her 100 ml karışıma 2,5 g (% 2.5'lik) potasyum dikromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) ilave edildi.

#### 2.2.5. İstatistik Değerlendirme

Çalışmadan elde edilen tüm değerlerin istatistiki analizinde Epi-info 6.0 A bilgisayar programı kullanıldı ve Ki-kare testi ile değerlendirildi. Epidemiyolojik olarak risk faktörleri ile seropozitiflik arasındaki ilişkide,  $p$  değerinin 0.05'ten küçük olması ( $p < 0.05$ ) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (193). Aynı programla epidemiyolojik olarak risk faktörleri ile seropozitiflik arasındaki ilişkinin şiddeti ise istatistikte OR (Odds ratio) denilen "ihtimal oranı"nın hesaplanması ile doğrulandı.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Kars Yöresinde Sığır ve Köpeklerde *N.caninum*'un Görülme Sıklığı

Kars yöresinde yapılan bu çalışmada *N. caninum*'un sığır ve köpeklerde görülme sıklığına ait toplu bulgular Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3.1- Kars yöresinde *N.caninum*'un sığırlarında CI-ELISA, köpeklerde IFAT ile seroprevalansı ve köpek dışkılarında *N.caninum* benzeri ookistlerin görülme sıklığı**

Köy Grupları	Köyler	Sığır (CI-ELISA) pz / n (%)	Köpek (IFAT) pz / n (%)	Köpek Dışı Yoklaması pz / n (%)
İthal Hayvanların girdiği köyler (Gr 1)	Azat	18 / 100 (18,0)	7 / 15 (46,7)	0 / 7 (0,0)
	Bulanık	3 / 100 (3,0)	6 / 24 (25,0)	0 / 11 (0,0)
	Cumhuriyet	2 / 100 (2,0)	5 / 18 (27,8)	2 / 15 (13,3)
	Çakmak	19 / 100 (19,0)	7 / 16 (43,8)	0 / 10 (0,0)
	Halefoğlu	5 / 100 (5,0)	2 / 13 (15,4)	2 / 12 (16,7)
	Hapanlı	8 / 100 (8,0)	4 / 15 (26,7)	0 / 4 (0,0)
	<b>6 köy topl.</b>	<b>55 / 600 (9,2)</b>	<b>31 / 101 (30,7)</b>	<b>4 / 59 (6,8)</b>
İthal hayvanların girmedği köyler (Gr 2)	Alaca	3 / 46 (6,5)	5 / 15 (33,3)	1 / 13 (7,7)
	Aynalı	0 / 90 (0,0)	3 / 24 (12,5)	0 / 6 (0,0)
	Büyük Boğatepe	3 / 100 (3,0)	4 / 16 (25,0)	3 / 16 (18,8)
	Mezra	3 / 100 (3,0)	3 / 20 (15,0)	2 / 18 (11,1)
	Ocaklı	15 / 100 (15,0)	5 / 21 (23,8)	0 / 7 (0,0)
	Yücelen	0 / 64 (0,0)	2 / 13 (15,4)	0 / 6 (0,0)
	<b>6 köy topl.</b>	<b>24 / 500 (4,8)</b>	<b>31 / 101 (20,2)</b>	<b>6 / 66 (9,1)</b>
<b>Genel Topl.</b>	<b>12 köy topl.</b>	<b>79 / 1100 (7,2)</b>	<b>53 / 210 (25,2)</b>	<b>10 / 125 (8,0)</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı

### 3.1.1. Kars Yöresinde Sığırlarda CI-ELISA ile Seropozitiflik Durumu

Araştırma süresince Kars yöresinde il merkezine bağlı 12 köyden alınan toplam 1100 sığır serumu ELISA testi ile *N. caninum* antikoru yönünden muayene edildi ve incelenen örnek sayısının 79'u seropozitif (%7,2) bulunurken, 1021'ü seronegatif (%92,8) olarak bulundu (Tablo 3.2).

**Tablo 3.2- Kars yöresinde CI-ELISA ile *N.caninum*-seropozitif sığırların görülme sıklığı**

Köyler	n	pz	%
Azat	100	18	18,0 (a)
Bulanık	100	3	3,0 (b)
Cumhuriyet	100	2	2,0 (b)
Çakmak	100	19	19,0 (a)
Halefoğlu	100	5	5,0 (b)
Hapanlı	100	8	8,0 (bc)
Alaca	46	3	6,5 (ab)
Aynalı	90	0	0,0
Büyük Boğatepe	100	3	3,0 (b)
Mezra	100	3	3,0 (b)
Ocaklı	100	15	15,0 (ac)
Yücelen	64	0	0,0
<b>Toplam</b>	<b>1100</b>	<b>79</b>	<b>7,2</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
 $\chi^2=50,93$ , Farklı harflerle belirtilen köyler arasında  $p<0,001$

Kars Merkezine bağlı toplam 12 odaktan alınan sığır serum örnekleri toplu olarak yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde seroprevalansın 1 yaş altındakilerde %2,5, 1-3 yaş arasındakilerde %5,4 oranında olduğu tespit edilirken, seroprevalansın en yüksek olduğu 3 yaş üstündekilerde ise % 9,0 oranında pozitiflik tespit edildi (Tablo 3.3). Yaş grupları arasında *N. caninum* yaygınlığının istatistiki olarak anlamlı olduğu belirlendi ( $p<0,05$ ). Ayrıca yaş grupları arasında farklı harflerle ifade edilen değerlerin birbirinden istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ). Yani 1 yaş altı sığırlar ile 3 yaş üstü inekler arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde

farklılık olduğu belirlenirken, 3 yaş üstü ineklerin bir yaş altı gençlere göre 3,87 ( $1,33 < OR < 12,73$ ) kez daha riskli grup olduğu belirlenmiştir. Bir yaş altı danalar ile 1-3 yaş arası sığırlar arasında yada 1-3 yaş ile 3 yaş üstü hayvanlar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi.

**Tablo 3.3- Kars yöresinde yaş gruplarına göre CI-ELISA ile *N.caninum*-seropozitif sığırların görülme oranları**

Yaş grupları	n	pz	%
<1 yaşında	160	4	2,5 (a)
1 – 3 yaşında	276	15	5,4 (a,b)
>3 yaşında	664	60	9,0 (b)
<b>Toplam</b>	<b>1100</b>	<b>79</b>	<b>7,2</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
 $\chi^2 = 9,95$ , Farklı harfle belirtilen gruplar arasında  $p < 0,05$

Bu çalışmada, 31 atık yaptığı bilinen inek serumunun 5'inde (%16,1) ve atık yapmadığı üretici tarafından öne sürülen 909 inek serumunun 70'inde (%7,7) ELISA testi ile pozitiflik belirlendi, seropozitiflik oranının atık yapanlarda daha yüksek olduğu, fakat iki grup arasında pozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. ( $p > 0,05$ ) (Tablo 3.4).

**Tablo 3.4-Kars yöresinde atık yapan ve yapmayan sığırlar arasında CI-ELISA ile *N.caninum*-seropozitif olanların görülme oranları**

Gruplar	N	pz	%
Atık Yapan	31	5	16,1
Atık Yapmayan	909	70	7,7
<b>Toplam</b>	<b>1100</b>	<b>79</b>	<b>7,2</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
 $\chi^2 = 2,900$ ,  $p > 0,05$

### 3.1.2. Kars Yöresinde Köpeklerde IFAT ile Seropozitiflik Durumu

Sığır serumlarının alındığı 12 köyden toplam 210 köpeğin kanında IFAT ile *N. caninum*'un yaygınlığı % 25,2 (53 / 210) olarak belirlendi. Bu 12 odakta *N. caninum*'un seroprevalansı %12,5- %46,8 arasında değişmiş olup, odaklar arasında *N. caninum* seroprevalansı yönünden fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ), (Tablo 3.5).

**Tablo 3.5-Kars yöresinde IFAT ile *N.caninum*-seropozitif köpeklerin görülme sıklığı**

Köyler	n	Pz	%
Azat	15	7	46,7
Bulanık	24	6	25,0
Cumhuriyet	18	5	27,8
Çakmak	16	7	43,8
Halefoğlu	13	2	15,4
Hapanlı	15	4	26,7
Alaca	15	5	33,3
Aynalı	24	3	12,5
Büyük Boğatepe	16	4	25,0
Mezra	20	3	15
Ocaklı	21	5	23,8
Yücelen	13	2	15,4
<b>Toplam</b>	<b>210</b>	<b>53</b>	<b>25,2</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
 $\chi^2=11,69$ ,  $p>0,05$

Kars yöresinde IFAT ile serum örneği incelenen 210 köpeğin seroprevalans sonuçları dikkate alındığında; *N. caninum* yaygınlığının erkeklerde (%28,1), saf ırklarda (%36,7) ve yaşlılarda (%45,7) daha yüksek olduğu saptanmış olup, bu gruplar arasında enfeksiyon oranları yönünden istatistik olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ( $p< 0,05$ ), (Tablo 3.6).

**Tablo 3.6-Kars yöresinde cinsiyet, ırk ve yaş gruplarına göre IFAT ile *N.caninum*-seropozitif köpeklerin görülme oranları**

Değişken	n	pz	%	p değeri	OR	%95CI
Dişi	39	5	12,8			
				<0,05	2,65	0,92- 8,23
Erkek	171	48	28,1			
Saf ırk*	79	29	36,7			
				<0,05	2,59	1,31- 5,14
Melez	131	24	18,3			
1-5 yaşında	175	37	21,1			
				<0,05	0,32	0,14- 0,73
6 – 10 yaşında	35	16	45,7			

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı; OR = Odds ratio; %95CI = %95 Confidence intervals (güvenlik sınırı)

\* Kafkas çoban köpeği, Kangal, İngiliz setter, Akbaş ırkları

*Neospora caninum*'a karşı seropozitif olduğu belirlenen toplam 53 köpek serumunun IFAT ile 1/16 ile 1/1024 arasındaki oranlarda antikor titresi verdiği belirlendi. Sulandırma basamağı 1/16 titrede 19, 1/32'de 12, 1/64'de 5, 1/128'de 6, 1/256'da 4, 1/512'de 6 ve 1/1024'de 1 pozitif serum belirlendi (Tablo 3.7).

**Tablo 3.7-IFAT ile pozitif bulunan köpek serumlarında *N.caninum*'a karşı oluşan antikor (IgG) titre değerleri dağılımı**

Köyler	pz*	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024
Azat	7	1	5	1				
Bulanık	6	2		1	2	1		
Cumhuriyet	5	2	1	1	1			
Çakmak	7	4			1	1	1	
Halefoğlu	2	1				1		
Hapanlı	4	1	1				1	1
Alaca	5	2		1	2			
Aynalı	3	2		1				
Büyük Boğatepe	4		3				1	
Mezra	3	1	2					
Ocaklı	5	2				1	2	
Yücelen	2	1					1	
<b>Toplam</b>	<b>53</b>	<b>19</b>	<b>12</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>1</b>

pz= Seropozitif bulunan toplam hayvan sayıları

Köpek serumlarında cinsiyet, ırk, yaş ve yerleşim yerleri ile antikor titreleri arasında bir ilişki bulunamadı.

### 3.1.3. Kars Yöresi Köpek Dışkılarında Mikroskopik Yoklama Bulguları

Kars merkeze bağlı 12 köyden toplanan 125 köpek dışkısının mikroskopik incelenmesi sonucu 10 köpek dışkısında (%8,0) *Neospora*-benzeri ookist görüldü. Çalışmanın yapıldığı 12 köyden 5'inden (Alaca, Büyük Boğatepe, Cumhuriyet, Halefoğlu ve Mezra) alınan dışkı örneklerinde *Neospora*-benzeri ookistler saptandı (Tablo 3.8). Köpek dışkısında saptanan *Neospora*-benzeri ookistler Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.8-Kars yöresinde dışkısında *Neospora*-benzeri ookist bulunan köpeklerin görülme sıklığı**

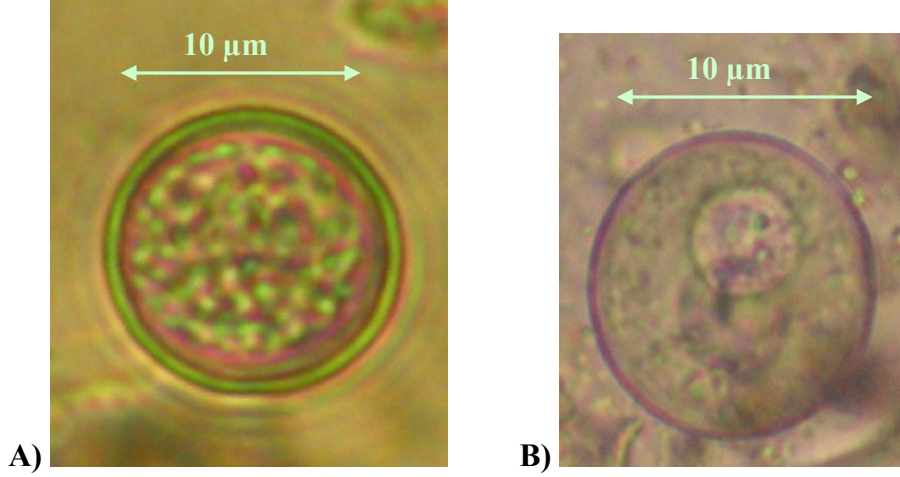
Köyler	n	Pz	%
Azat	7	0	0,0
Bulanık	11	0	0,0
Cumhuriyet	15	2	13,3
Çakmak	10	0	0,0
Halefoğlu	12	2	16,7
Hapanlı	4	0	0,0
Alaca	13	1	7,7
Aynalı	6	0	0,0
Büyük Boğatepe	16	3	18,8
Mezra	18	2	11,1
Ocaklı	7	0	0,0
Yücelen	6	0	0,0
<b>Toplam</b>	<b>125</b>	<b>10*</b>	<b>8,0</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı

\* <1 yaş: 3 adet, 1-2 yaş arası: 2 adet, 3-5 yaş arası: 2 adet; >6 yaş: 3 adet köpek

$\chi^2 = 0,944$ ,  $p > 0,05$





**Şekil 3.1- Köpek dışkısında *Neospora*- benzeri ookistler**

A) Sporlanmamış, B) Sporlanmış

### 3.2. İthal Hayvanların Girdiği Köylere (Grup 1) Ait Bulgular

#### 3.2.1. Grup 1 Sığırlarda ELISA ile Seropozitiflik Durumu

İthal hayvanların girdiği köylerden alınan sığır serumlarında CI-ELISA seropozitiflik durumu Tablo 3.9’da verildi.

**Tablo 3.9- Kars yöresinde ithal sığırların girdiği köylerde CI-ELISA ile *N.caninum*-seropozitif sığırların görülme sıklığı**

Köyler	n	Pz	%
Azat	100	18	18,0 (a)
Bulanık	100	3	3,0 (b)
Cumhuriyet	100	2	2,0 (b)
Çakmak	100	19	19,0 (a)
Halefoğlu	100	5	5,0 (b)
Hapanlı	100	8	8,0 (b)
<b>Toplam</b>	<b>600</b>	<b>55</b>	<b>9,2</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
 $\chi^2 = 34,12$ , Farklı harf taşıyan köyler arasında  $p < 0,001$

Tablo 3.9’te görüldüğü üzere ithal hayvanların girdiği köylerden alınan sığır serumlarında CI-ELISA testine göre seroprevalans oranı %9,2 oranında tespit edilmiş olup, odaklar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulundu ( $p<0,001$ ). Ayrıca köyler arasında da farklı harflerle ifade edilen değerlerin birbirinden istatistiksel olarak farklı olduğu tespit edildi, ( $p<0,05$ ).

Resmi kayıtlara göre ithal hayvanların girdiği köylerde ELISA yöntemine göre odaklar arasında ithal inekler ve onlardan olan sonraki jenerasyonlar ile yerli sığırlar (Yerli Kara, Zavot, DAK ve Montofon melezi vs.) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi ( $p>0,05$ ), (Tablo 3.10).

**Tablo 3.10- İthal sığırların girdiği köylerde yerli ve ithal sığırlarda CI-ELISA ile *N.caninum*-seropozitif olanların görülme oranları**

Gruplar	İthal sığırlar ve Jenerasyonları			Yerli sığırlar		
	n	pz	%	n	pz	%
Azat	23	3	13	77	15	19,5
Bulanık	75	2	2,7	25	1	4
Cumhuriyet	48	1	2,1	52	1	1,9
Çakmak	58	9	15,5	42	10	23,8
Halefoğlu	29	1	3,5	71	4	5,6
Hapanlı	44	5	11,4	56	3	5,4
<b>Toplam</b>	<b>277</b>	<b>21</b>	<b>7,6</b>	<b>323</b>	<b>34</b>	<b>10,5</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
 $\chi^2= 1,553$ , İthal ve yerli sığır grupları arası  $p>0,05$

Kan alınan sığırlar 3 yaş grubuna ayrıldığında, 0-1 yaş arasındaki 94 sığırın dördünde (%4,3) *N. caninum*’a karşı gelişen antikorlara rastlanırken, bu oran 1-3 yaş grubundakilerde %6,6, 3 yaş üzerindekiilerde ise %11,8 olarak tespit edildi (Tablo 3.11). Yaş grupları arasında tespit edilen seroprevalans oranlarındaki farklılıklar istatistiki açıdan önemli ( $p<0,05$ ) bulundu.

**Tablo 3.11-İthal sığırların girdiği köylerde yaş gruplarına göre CI-ELISA ile *N.caninum*-seropozitif sığırların görülme oranları**

Gruplar	<1 yaşında			1 – 3 yaşında			>3 yaşında		
	n	pz	%	n	pz	%	n	pz	%
Azat	6	1	16,7	32	5	15,6	62	12	19,4
Bulanık	8	0	0,0	42	1	2,4	50	2	4,0
Cumhuriyet	28	0	0,0	23	0	0,0	49	2	4,1
Çakmak	26	2	7,7	18	4	22,2	56	13	23,2
Halefoğlu	9	1	11,1	31	1	3,2	60	3	5,0
Hapanlı	17	0	0,0	20	0	0,0	63	8	12,7
<b>Toplam</b>	<b>94</b>	<b>4</b>	<b>4,3*</b>	<b>166</b>	<b>11</b>	<b>6,6*</b>	<b>340</b>	<b>40</b>	<b>11,8*</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı

$\chi^2=6,82$   $p<0,05$

\* <1 yaş ile 1-3 yaş arasında  $\chi^2=0,60$   $p>0,05$

\* <1 yaş ile >3 yaş arasında  $\chi^2=4,56$   $p<0,05$

\* 1-3 yaş ile >3 yaş arasında  $\chi^2=3,32$   $p>0,05$

### 3.2.2. Grup 1 Köpeklerde IFAT ile Seropozitiflik Durumu

Kars yöresinde ithal hayvanların girdiği köylerden alınan köpek serumlarında IFA testine göre seroprevalans oranı %30,7 oranında tespit edildi ve odaklar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı bulundu ( $p>0,05$ ), (Tablo 3.12).

**Tablo 3.12- Kars yöresinde ithal sığırların girdiği köylerde IFAT ile *N.caninum*-seropozitif köpeklerin görülme sıklığı**

Köyler	n	pz	%
Azat	15	7	46,7
Bulanık	24	6	25,0
Çakmak	16	7	43,8
Cumhuriyet	18	5	27,8
Halefoğlu	13	2	15,4
Hapanlı	15	4	26,7
<b>Toplam</b>	<b>101</b>	<b>31</b>	<b>30,7</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
 $\chi^2=5,06$ ,  $p>0,05$

İthal hayvanların girdiği köylerde IFA testine göre pozitif görülme oranlarında odaklar arasında cinsiyete ve ırklara göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenirken ( $p>0,05$ ), yaş gruplarına göre pozitif görülme oranının daha ileri yaştakilerde anlamlı ( $p<0,05$ ) olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi, (Tablo 3.13).

**Tablo 3.13- İthal sığırların girdiği köylerde cinsiyet, ırk ve yaş gruplarına göre IFAT ile *N.caninum*-seropozitif köpeklerin görülme oranları**

Değişken	n	pz	%	p değeri	OR	%95CI
Dişi	21	4	19,0	> 0,05	2,17	0,60 - 8,49
Erkek	80	27	33,8			
Saf ırk*	42	17	40,5	> 0,05	2,19	0,85 - 5,66
Melez	59	14	23,7			
1-5 yaşında	84	22	26,2	<0,05	0,32	0,10 - 1,03
6–10 yaşında	17	9	52,9			

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı; OR = Odds ratio; %95CI = %95 Confidence intervals (güvenlik aralığı)

\* Kafkas çoban köpeği, Kangal, İngiliz setter, Akbaş ırkları

### 3.3. İthal Hayvanların Girmediği Köylere (Grup 2) Ait Bulgular

#### 3.3.1. Grup 2 Sığırlarda ELISA ile Seropozitiflik Durumu

Kars yöresinde ithal hayvanların girmediği köylerden alınan sığır serumlarında ELISA yöntemine göre seroprevalans oranı %4,8 oranında tespit edilmiş olup, incelenen köyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu belirlendi ( $p<0,01$ ). Ayrıca köyler arasında da farklı harflerle ifade edilen değerlerin birbirinden istatistiki olarak farklı olduğu tespit edildi, ( $p<0,05$ ). Yani Ocaklı köyü ile Büyükboğatepe ve Mezra köyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu bulunurken, Ocaklı köyü ile Alaca köyü arasında istatistiki olarak farklılığın olmadığı bulundu (Tablo 3.14).

**Tablo 3.14-Kars yöresinde ithal sığırların girmediği köylerde ELISA ile *N.caninum*-seropozitif sığırların görülme sıklığı**

Köyler	n	pz	%
Alaca	46	3	6,5 (a,b)
Aynalı	90	0	0,0
Büyük Boğatepe	100	3	3,0 (b)
Mezra	100	3	3,0 (b)
Ocaklı	100	15	15,0 (a)
Yücelen	64	0	0,0
<b>Toplam</b>	<b>500</b>	<b>24</b>	<b>4,8</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
 $\chi^2=14,89$ , Farklı harf taşıyan köyler arasında  $p<0,001$

İthal hayvanların girmediği odaklarda kan alınan sığırlar 3 yaş grubuna ayrılmıştır. Yaş gruplarından 0-1 yaş arasındaki 66 sığırın hiç birinde (%0,0) antikora rastlanmamışken, 1-3 yaş grubundakilerde seroprevalans oranı %3,6, 3 yaş üzerindekiilerde ise bu oran %6,2 olarak bulundu (Tablo 3.15). Yaş gruplarından 1

yaş altı danalarda antikora rastlanmadığı için istatistiki değerlendirme yapılamadı. Fakat 1-3 yaş arası gençler ile 3 yaş üstü inekler arasında tespit edilen seroprevalans oranlarındaki farklılıklar istatistiki açıdan önemsiz bulundu ( $p>0,05$ ).

**Tablo 3.15-İthal sığırların girmediği köylerde yaş gruplarına göre CI-ELISA ile *N.caninum*-seropozitif sığırların görülme oranı**

Gruplar	<1 yaşında			1 – 3 yaşında			>3 yaşında		
	n	pz	%	n	pz	%	n	pz	%
Alaca	0	0	0,0	23	1	4,3	23	2	8,7
Aynalı	9	0	0,0	9	0	0,0	72	0	0,0
Büyük Boğatepe	18	0	0,0	11	0	0,0	71	3	4,2
Mezra	18	0	0,0	24	1	4,2	58	2	3,4
Ocaklı	21	0	0,0	25	2	8,0	54	13	24,1
Yücelen	0	0	0,0	18	0	0,0	46	0	0,0
<b>Toplam</b>	<b>66</b>	<b>0</b>	<b>0,0</b>	<b>110</b>	<b>4</b>	<b>3,6*</b>	<b>324</b>	<b>20</b>	<b>6,2*</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
 $\chi^2=5,02$   $p>0,05$

\* 1-3 yaş - >3 yaş grupları arasında ( $\chi^2=1,05$ ,  $p>0,05$ )

### 3.3.2. Grup 2 Köpeklerde IFAT ile Seropozitiflik Durumu

Kars yöresinde ithal hayvanların girmediği köylerden alınan köpek serumlarında IFA testine göre ortalama seroprevalans %20,2 oranında tespit edilmiş olup, odaklar arasında pozitif görülme oranı farklılığının istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ( $p>0,05$ ), (Tablo 3.16).

**Tablo 3.16- Kars yöresinde ithal sığırların girmediği köylerde IFAT ile *N.caninum*-seropozitif köpeklerin görülme sıklığı**

Köyler	n	pz	%
Alaca	15	5	33,3
Aynalı	24	3	12,5
Büyük Boğatepe	16	4	25,0
Mezra	20	3	15,0
Ocaklı	21	5	23,8
Yücelen	13	2	15,4
<b>Toplam</b>	<b>109</b>	<b>22</b>	<b>20,2</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
 $\chi^2=3,411$ ,  $p>0,05$

İthal hayvanların girmediği köylerde cinsiyete göre *N. caninum*'un seroprevalansı erkek köpeklerde %23,1, dişi köpeklerde ise %5,6 oranında bulundu. Ancak bu farklılığın istatistik olarak anlamlı olmadığı ( $p>0,05$ ) görüldü (Tablo 3.17).

**Tablo 3.17-İthal sığırların girmediği köylerde cinsiyet, ırk ve yaş gruplarına göre IFAT ile *N.caninum*-seropozitif köpeklerin görülme oranı**

Değişken	n	pz	%	p değeri	OR	%95CI
Dişi	18	1	5,6	> 0,05	5,10	0,64 - 108,71
Erkek	91	21	23,1			
Saf ırk*	37	12	32,4	<0,05	2,98	1,03 - 8,65
Melez	72	10	13,9			
1-5 yaşında	91	15	16,5	<0,05	0,31	0,09 - 1,06
6-10 yaşında	18	7	38,9			

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı, OR = Odds ratio; %95CI = %95 Confidence intervals (güvenlik sınırı)

\* Kafkas çoban köpeği, Kangal, İngiliz setter, Akbaş ırkları

Tablo 3.17'ye ırklar yönünden bakıldığında saf ırk köpeklerde *N.caninum*'un seroprevalansı %32,4 oranında saptanırken, melez ırk köpeklerde %13,9 oranında bulunduğu, yaşa gruplarına göre bakıldığında seroprevalans 6-10 yaş grubu köpeklerde (%38,9), 1-5 yaş grubu köpeklere (%16,5) göre daha yüksek oranda olduğu görülmektedir. Köpeklerde ırk ve yaşlara göre görülen bu farklılıklar istatistik olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ).

### 3.4. İthal Hayvanların Girdiği ve Girmediği Köyler Arası Karşılaştırma

#### 3.4.1. Sığırlarda ELISA Bulgularını Karşılaştırma

Araştırmadan elde edilen sonuçların gruplar arası karşılaştırması yapıldığı zaman ithal hayvanların girdiği köy gruplarındaki sığırlarda *N. caninum*'un seroprevalansının %9,2 (55/600) olduğu, ithal hayvanların girmediği köy gruplarında ise %4,8 (24/500) oranında seroprevalans gösterdiği belirlendi. İki grup karşılaştırıldığı zaman aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğunu ( $p<0,05$ ) ve ithal hayvanların girdiği köylerin ithal hayvanların girmediği köylerden 2,00 kez  $OR=2,00$  ( $1,19<OR<3,38$ ) daha riskli olduğu belirlendi (Tablo 3.18).

**Tablo 3.18- İthal hayvanların girdiği ve girmediği köylerde CI-ELISA ile *N.caninum*-seropozitif sığırların görülme oranları karşılaştırması**

Gruplar	n	pz	%
İthal hayvanların girdiği	600	55	9,2
İthal hayvanların girmediği	500	24	4,8
<b>Toplam</b>	1100	79	7,2

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
Gruplar arası ( $\chi^2=7,801$ ,  $p<0,05$ ,  $OR=2,00$  ( $1,19<OR<3,38$ ))

İki grup ithal sığırlar yönünden karşılaştırıldığı zaman Grup 2'deki köylere ithal hayvan girişi olmadığı için seropozitiflik yönünden istatistiksel olarak



kıyaslanma yapılamadı. Her iki grup yerli sığırlar yönünden karşılaştırıldığında ithal hayvanların girdiği köylerde %10,5 oranında *N. caninum*'a ait antikorlar tespit edilirken, ithal hayvanların girmediği köylerde %4,8 oranında tespit edildi. Bu sonuçlara göre, ithal hayvan girişi olan köy grubu ithal hayvan girişi olmayan diğer gruba göre 2,33 kez daha riskli grup olarak saptandı (Tablo 3.19).

**Tablo 3.19- İthal sığırların girdiği ve girmediği köylerde yerli sığırlar arasında CI-ELISA ile *N.caninum*-seropozitif olanların görülme oranları karşılaştırması**

Gruplar	n	pz	%
İthal hayvanların girdiği	323	34	10,5
İthal hayvanların girmediği	500	24	4,8
<b>Toplam</b>	<b>823</b>	<b>58</b>	<b>7,0</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı  
Gruplar arası ( $\chi^2=9,823$ ,  $p<0,05$ , OR= 2,33 (1,31<OR<4,16))

Yaş gruplarından 1 yaş altı hayvanlar arasında iki grup karşılaştırıldığında, ithal hayvanların girdiği köylerde %4,3 oranında *N. caninum*'a ait antikorlar tespit edilirken, ithal hayvanların girmediği köylerde tespit edilemedi. Yine gruplar arası çalışmada, 1-3 yaş arası düvelerde anti- *N. caninum* antikorlarının seropozitifliğine bakıldığında, ithal hayvan girişi olan köy gruplarında %6.6 oranında saptanırken, ithal hayvan girişi olmayan grupta %3,6 oranında bulundu. İstatistiksel olarak iki grup arasında bir yaş altı (<1) grup ve 1-3 yaş arası sığırlar hastalığın epidemiyolojisinde istatistiki olarak önemli olmadığı belirlendi ( $p>0,05$ ). Yaş gruplarından 3 yaş üstü inekler karşılaştırıldığında, ithal hayvan girişi olan köy gruplarında %11,8 oranında saptanırken, ithal hayvan girişi olmayan grupta %6,2 oranında saptandı. İki grup 3 yaş üstü inekler bakımından karşılaştırıldığı zaman istatistiki olarak anlamlı bir farklılığın olduğu tespit edildi ( $p<0,05$ ). Bu sonuçlara göre, ithal hayvan girişi olan köylerin olduğu grupta ineklerin, diğer gruptaki ineklere göre 2,03 kez daha riskli grup olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.20).

**Tablo 3.20- İthal sığırların girdiği ve girmediği köylerde yaş gruplarına göre CI-ELISA ile *N.caninum*-seropozitif sığırların görülme oranları karşılaştırması**

Gruplar	<1 yaşında			1 – 3 yaşında			>3 yaşında		
	n	pz	%	n	pz	%	n	pz	%
İthal hayv. girdiği	94	4	4,3	166	11	6,6	340	40	11,8*
İthal hayv. girmediği	66	0	0,0	110	4	3,6	324	20	6,2*
<b>Toplam</b>	<b>160</b>	<b>4</b>	<b>2,5</b>	<b>276</b>	<b>15</b>	<b>5,4</b>	<b>664</b>	<b>60</b>	<b>9,0</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı

\* >3 yaştaki gruplar arası ( $\chi^2= 6,31$ ,  $p<0,05$  OR=2,03 (1,12<OR<3,69))

### 3.4.2. Köpeklerde IFAT Bulgularını Karşılaştırma

İki grup arasında köpeklerde *N. caninum* seroprevalans oranı; ithal hayvanların girdiği grupta %30,7 ithal hayvanların girmediği grupta ise %20,2 olarak bulunmuştur ( $p>0,05$ ), (Tablo 3.21).

**Tablo 3.21- İthal sığırların girdiği ve girmediği köylerde IFAT ile *N.caninum*-seropozitif köpeklerin görülme oranları karşılaştırması**

Gruplar	n	pz	%
İthal hayvanların girdiği	101	31	30,7
İthal hayvanların girmediği	109	22	20,2
<b>Toplam</b>	<b>210</b>	<b>53</b>	<b>25,2</b>

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı

$\chi^2=3,069$ , gruplar arası  $p>0,05$

Anti-*N.caninum* antikorları yaygınlığının köy grupları arasında köpeklerin cinsiyet, ırk ve yaşlarına göre istatistiki bir farklılık göstermemektedir ( $p>0,05$ ), (Tablo 3.22).

**Tablo 3.22- İthal sığırların girdiği (Gr 1) ve girmediği (Gr 2) köylerde cinsiyet, ırk ve yaş gruplarına göre IFAT ile *N.caninum*-seropozitif köpeklerin görülme oranları karşılaştırması**

Değişken	Gr 1			Gr 2			<i>p</i> Değeri	OR	%95CI
	n	pz	%	n	pz	%			
Dişi	21	4	19,1	18	1	5,6	>0,05	4,00	0,35-104,49
Erkek	80	27	33,8	91	21	23,1	>0,05	1,70	0,82-3,52
Saf ırk	42	17	40,5	37	12	32,4	>0,05	1,42	0,51-3,96
Melez	59	14	23,7	72	10	13,9	>0,05	1,93	0,72-5,20
<1-5 yaş	84	22	26,2	91	15	16,5	>0,05	1,80	0,81-4,01
6-10 yaş	17	9	52,9	18	7	38,9	>0,05	1,77	0,38-8,49

n = incelenen hayv. sayısı; pz = pozitif hayv. sayısı; % = pozitiflerin yüzde oranı; OR = Odds ratio; %95CI = %95 Confidence intervals (güvenlik sınırı)

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

İlk kez 1984 yılında ensefalomyelitis ve miyositisli bir köpekte tespit edilen *Neospora caninum*'un, 1989 yılında Meksika'da bir abort salgını sırasında sütçü sığırlarda tespit edilmesinden sonra özellikle son 20 yılda tüm dünyada abort vakalarının etiyojisinde önemli bir yere sahip olduğu anlaşılmıştır (11,71).

Dünyanın birçok bölgesinde sığır neosporosisinin seroprevalansını saptamak için çeşitli çalışmalar yapılmış ve halen bu konuda araştırmalar devam etmektedir. *Neospora caninum*'a Avustralya, Kanada, Yeni Zelanda, Danimarka, İrlanda, İngiltere, İspanya, İsrail, Hollanda, Almanya, Kore, Japonya, Tayland ve ABD gibi tüm dünyada rastlanmaktadır (72,87,199). Sığırlardaki seroprevalans çalışmaları ülkeler arasında, ülke içinde, bölgeler arasında, etçil ve sütçü sığırlar arasında farklılık arz etmektedir. Bununla birlikte çalışma planı, incelenecek olan örneklerin büyüklüğü, çiftlik veya işletme yönetimindeki farklılıklar ve kullanılan serolojik testin tipi ile hastalığın belirlenmesinde kullanılan cut-off seviyesine göre de değişiklik gösterebileceği bildirilmiştir (30,72,93).

Hastalığın serolojik tanısında yaygın olarak ELISA ve IFAT kullanılmaktadır (93). ELISA testi ile yapılan çalışmalarda, *Neospora*'nın seropozitiflik oranları İran'da %46 (198), Kore'de %23 (18), İtalya'da %11 (180), İspanya'da %36,8 (160), İngiltere'de %18 (65), İsveç'de %1,3 (30), Almanya'da %4,1 (30), İspanya'da %15,8 (30) ve Hollanda'da %13,3 (30), olarak bulunmuştur. IFAT kullanılarak yapılan çalışmalarda ise, ineklerde anti-*N. caninum* antikorları Brezilya'da %17,8 (61), Japonya'da %5,7 (143), Arjantin'de %39,86 (170) ve Almanya'da %27 (209) oranında tespit edilmiştir.

Türkiye'de sığırlarda neosporosis konusunda yapılmış sınırlı sayıda çalışma vardır. Genel olarak sığırlarda ki *N. caninum*'un yaygınlığı ile ilgili yapılan

araştırmalarda *N. caninum* seroprevalansının en düşük %2 (5) ile en yüksek %35,07 (195) olduğu kaydedilmiştir. Türkiye’de *N. caninum* yaygınlığı; İç Anadolu bölgesinde retrospektif bir çalışmada %5,10 – 32,72 arasında değişen oranlarda (35), Trakya’da %8,02 (36), Sakarya’da %9,2 (182), Şanlıurfa’da %7,5 (211), Doğu Anadolu’nun bazı illerinden Elazığ’da %15, Malatya’da %4, Muş’ta %4,86 ve Bingöl’de %4,69 (7), Kayseri’de %7 (133) ve İç Anadolu bölgesinden sekiz ilde ise genel olarak %13,96 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (229). Kars ilinde ise **Akça ve ark.** (5) tarafından genel olarak %2 oranında anti-*N. caninum* antikörlerine rastlanmıştır. Son yıllarda **Pişkin ve Ütük** (195) tarafından yapılan çalışmada ise, Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsüne gönderilen 134 abort ve ölü doğum yapmış inek serumunun 47’sinde %35.07 oranında *N. caninum*’a ait antikörlerin varlığı tespit edilmiştir.

Türkiye’de sığır yetiştiriciliğinde önemli bir yere sahip olan Kars yöresinde yapılan bu tez çalışması ise sığırlarda ve köpeklerde *N. caninum*’un epidemiyolojik olarak seroprevalansını saptamak için yapılmıştır. Çalışmada CI-ELISA ve IFAT yöntemleri kullanıldı ve araştırma 12 odakta yürütüldü. Araştırma odaklarından toplanan 1100 sığırdan genel olarak %7,2 oranında anti-*N. caninum* antikörleri tespit edildi. Araştırmanın amacını oluşturan ve resmi kayıtlara göre ithal sığırların girdiği ve ithal sığırların girmediği köy grupları arasında epidemiyolojik olarak karşılaştırma yapıldı. Özellikle Avrupa ülkeleri başta olmak üzere ithal hayvanların bölgeye getirildiği bilinmektedir. Bu nedenle ithal sığırların girdiği köylerde seroprevalans %9,2 oranında bulunurken, ithal sığırların girmediği köylerde ise %4,8 oranında seroprevalans bulundu. Gruplar arası seroprevalans farklılığı istatistiki olarak önemli bulundu ( $p<0,05$ ). Ayrıca ithal sığırların girdiği köyler ithal sığırların girmediği köylerden istatistiki olarak 2,00 kez daha riskli grup olduğu tespit edildi. Araştırmanın sonuçlarına göre, Kars ilinde bulunan neosporosisin seroprevalansı dünyada ve Türkiye’de yapılan seroprevalans çalışmaları ile paralellik gösterdiği anlaşılmıştır. Sığırlarda klinik olarak ciddi atık sebebi olarak bilinen bu paraziter hastalığın gelecekte daha fazla yayılmaması için dikkat edilmesi gerektiğini hayvan yetiştiricilerine anlatılması gerekmektedir.

Kars iline 1992-1996 yıllarında Almanya'dan ve değişik zamanlarda Türkiye'nin çeşitli illerinden (Sivas, Bursa, Iğdır, Erzurum gibi) getirilen çoğunluğu simental olan orjinal sığırlar ile onlardan olan jenerasyonlarda neosporosisin seropozitifliği %7,6 olarak saptandı. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında Grup II'deki köylere ithal hayvan girişi olmadığı için seropozitiflik yönünden istatistiksel olarak kıyaslanma yapılamadı. Her iki grup yerli sığırlar yönünden karşılaştırıldığında ithal sığırların girdiği köylerde yerli sığırlarda %10,5 oranında *N. caninum*'a ait antikolar tespit edilirken, ithal sığırların girmediği köylerde ise yerli sığırlarda %4,8 oranında tespit edildi. Bu sonuçlara göre seropozitiflik yönünden yerli sığırlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu tespit edildi ( $p < 0,05$ ). Dolayısıyla ithal hayvan girişi olan köy grubu ithal hayvan girişi olmayan diğer gruba göre yerli sığırlar açısından 2,33 kez daha riskli grup olarak saptandı. Daha önce yörede benzer bir çalışma **Akça va ark.** (5) tarafından yapılmış olup, 2001 yılında toplam 301 sığırdan alınan kan örneklerinde *N. caninum*'un genel olarak %2 oranında seropozitifliği tespit edilmiştir. Araştırmacılar Almanya'dan getirilen orjinal simental sığırlar ve onlardan olan sonraki jenerasyonlardan oluşan toplam 73 sığırdan anti-*N. caninum* antikolarını %8,2 oranında tespit etmiş olup, yerli sığırlarda ise saptanmamıştır. Kars ilinde yapılan bu iki çalışma ile, neosporosisin genel seroprevalansında artışın gözlemlendiği, ithal edilmiş sığırlardan olan jenerasyonlarda ise seroprevalansın paralellik gösterdiği ve farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ( $p > 0,05$ ). Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre yerli sığırlarda seroprevalansın arttığı ve iki çalışmada test edilen yerli sığırlar arasında prevalans farklılığının istatistiksel olarak anlamlı olduğu anlaşıldı. Özellikle ithal hayvanların girmediği köy gruplarında yerli sığırlarda *N. caninum*'un görülmesinin bir sebebi de, *Neospora* ile bir şekilde enfekte olmuş köpeklerin bu köylere girmiş olabileceği gerçeğini de akla getirmektedir. Çünkü yörede köyler arasında köpek alış verişleri olabildiği gibi diğer illerden de köpekler (Sivas kangal vb.) getirilmektedir.

Dünyanın çeşitli yerlerinde yapılan sero-epidemiolojik çalışmalarda aynı yöredeki bazı hayvan ırklarında *N. caninum* enfeksiyonunun seroprevalansı diğerlerinden daha fazla bulunmuştur. Bunun aksine ırklar arasında seroprevalans farklılıklarının olmadığını gösteren yayınlarda vardır (196,218) Fakat hayvan ırklarının *Neospora* enfeksiyonlarına karşı duyarlılıklarını değerlendiren bu zamana kadar yapılmış bir çalışma mevcut değildir. Yapılan birçok çalışmada, sığırlarda ırklara göre seroprevalans oranındaki değişikliklerin sebebinin ırk özelliklerinden değil, farklı yetiştirme ve barınak şartlarından kaynaklandığı ifade edilmiştir (196,218). Özellikle değişik hayvan ırklarının hayvan yetiştiricileri tarafından görmüş oldukları değer ve muamele farklılıklarından kaynaklanıyor olabileceği gibi, Kars yöresinde olduğu gibi bir ırkın farklı bölgelerden getirilmiş olmalarından da kaynaklanıyor olabilir (5). *Neospora caninum*'un vertikal olarak bulaşabilen bir parazit olduğu gerçeğininde düşünerek, farklı bölgelerden getirilen değişik ırkların pozitif olduğu düşüncesiyle yavrularında görülmesi dolayısıyla o ırkta seroprevalansın yüksek görülmesine neden olabilir. Nitekim **Sevgili ve ark.** (211)'nin Şanlıurfa ilinde 305 inek üzerinde yapmış oldukları çalışmada 98 Holstein ırkında %8.1, 90 İsviçre esmerinde %6.6 ve 117 melez ırk sığırlarda %7.6 oranında pozitiflik olduğunu, dolayısıyla *N. caninum*'un seroprevalansı ile sığır ırkları arasında istatistiksel olarak yakın bir ilişki olmadığını ifade etmişlerdir. Doğu Anadolu'nun bazı illerinde ise **Aktaş ve ark.** (7) tarafından *N. caninum* üzerine yapılan araştırmada yerli, melez, simental, holşttein ve montofon ırkları arasında seropozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı bildirilmiştir.

Yörede sığırlarda yapılan iki çalışma arasında bulunan seroprevalans farklılığı, farklı zaman ve kullanılan farklı ticari kit gibi çalışma kriterlerinin önemli olacağı (72) fikrini akla getirirse bile bu konuda araştırmaların yapılmasına daha da ihtiyaç duyulduğu kaçınılmazdır. Ayrıca iki çalışma arasında geçen zaman sürecinde iklimsel değişikliklerin (ılıman ve yağışlı) olması (129), parazitin son konağı köpekler tarafından atılan sporlanmamış ookistlerin dış ortamda sporlanarak arakonaklar için enfektif formun oluşmasına neden olabilir (93,105). Bunun da yörede sığırlarda postnatal enfeksiyon riskini artırabileceği ihtimalini dolayısıyla

enfeksiyonun yayılmasında bir etken olabilir. Nitekim Kaliforniya’da iklim kışları ılıman ve yağışlı geçerken yazları tam tersine sıcak ve kuru geçmektedir. Burada *N. caninum* kaynaklı sığır abotları kış mevsiminde görüldüğü bildirilmiştir (219). Yine **Wouda ve ark.** (239) tarafından Hollanda’da sütçü sığırlarda yapılan çalışmada epidemik abortların yaz mevsiminde daha çok olduğunu dolayısıyla ülkede yaz mevsiminin sıcak ve nemli geçtiği bildirilmiştir. İliman ve nemli iklimin coccidia ookistlerin hayatta kalma şansını artırırken, sporlanmasında da yardımcı olduğundan postnatal enfeksiyonların riskini artırabildiğini bildirmişlerdir. Yine başka çalışmalarda bunu destekleyerek ılıman ve yağışlı iklimin aynı zamanda mantarların büyümesine neden olduğunu, mantar toksinlerinin ise sığırlarda bağışıklığın baskılanmasına sebep olabileceğinden şüphe edilmiştir. Bu durumun latent olarak enfekte ineklerde *N. caninum*’un nüksetmesine yardımcı olabileceği belirtilmiştir (93,117,219,239).

Araştırmadan elde edilen bulgulara göre, sığırlarda yaş dağılımındaki seroprevalansa baktığımızda genel olarak bir yaş altı (<1) danalarda *N. caninum*’un seroprevalansı %2,5 bulunurken, 1-3 yaş arası gençlerde %5,4 ve 3 yaş üstü (>3) ineklerde %9 oranında tespit edildi. Bu sonuçlara bakıldığında seropozitifliğin yaşla arttığını ve pozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada aradaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0,05$ ). İthal hayvanların girdiği ve girmediği köylere ayrı ayrı baktığımızda yaşla birlikte seroprevalansın arttığını, ithal hayvan giren köylerde 3 yaş üstü ineklerin diğer ithal hayvan girişi olmayan köylerdeki ineklerden 2,03 kez daha riskli olduğu belirlendi. Hatta ithal hayvanların girmediği köy grubunda bir yaş altı (<1) danalarda anti-*N. caninum* antikorlarına rastlanılmadı. Bütün bu sonuçlar yörede horizontal bulaşmanın olduğu yani sığırlarda postnatal enfeksiyonların geliştiği tespit edildi. Özellikle ithal hayvan girişi olmayan köy gruplarında yeni doğan buzağı ve danalar hastalık yönünden arı olup, sonradan enfeksiyonu aldığı bariz bir şekilde anlaşılmıştır. Bütün bu sonuçlar araştırmanın yapıldığı kırsal alanlarda neosporosis için sonkonak olan köpeklerin ciddi bir şekilde etrafı kontamine ettiğini göstermiştir. Özellikle ithal hayvanların girdiği köylerde sığırlarda hem vertikal (konjenital) hemde horizontal bulaşmanın olduğu görülürken,



ithal hayvanların girmediği köylerde sadece horizontal bulaşmanın olduğu belirlenmiştir.

Sığır neosporosisinde seropozitiflik ile yaş arasındaki ilişki konusunda farklı görüşler mevcuttur. **Jensen ve ark.** (138), **Sanderson ve ark.** (204), **Thurmond ve Hietala** (218), **Woodbine ve ark.** (236) yaş ile enfeksiyon arasında ilişkinin olduğunu ileri sürerken, **Davison ve ark.** (65), **Quintanilla-Gozalet ve ark.** (196) sığırlardaki seropozitiflik oranı ile yaş arasında bir ilişkinin bulunmadığını bildirmişlerdir. Yine **Koiwai ve ark.** (143) tarafından, Japonya'nın 18 bölgesinden random usulüyle klinik olarak sağlıklı sütçül sığırlardan toplanan 2420 serum örneği IFAT ile *N. caninum* antikorları bakımından incelenmiş ve %5,7 olarak bulunmuştur. Ayrıca bu çalışma ile seroprevalansın sığırın yaşı ile artmadığı ve seropozitif ineklerin abort yapmalarının daha muhtemel olduğu belirtilirken, Japonya'da vertikal bulaşmanın horizontal bulaşmadan daha önemli olabileceği önerilmiştir. **Razmi ve ark.** (198), İran'ın Horasan ve Meşhed bölgelerinde 30 süt sığır sürüsünden toplanan 337 serum örneği ELISA yöntemiyle incelenmiş ve bu sığırların %46'sında anti-*Neospora* antikorları bulunmuştur. Abortların seropozitif sığırlarla önemli bir şekilde ilişkili olduğu ve en yüksek abort riskinin 1-2 yaş hayvanlarda gözlemlendiği belirtilmiştir. Araştırmacılar bunun sebebini açıklayamamışlardır. Türkiye'de ise yaşla ilgili yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ise, **Sevgili ve ark.** (211), Şanlıurfa ilinde 305 sığır üzerine yapmış olduğu çalışmada seropozitifliğin yaşla azaldığını, yaşla seroprevalans arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde **Aktaş ve ark.** (7) tarafından Doğu Anadolu'nun bazı illerinden alınan toplam 513 sığırda yapılan *N. caninum* üzerine araştırma sonucu, bir yaşın altındaki 142 dananın 8'i (%5,63), 1-2,5 yaş arası 155 düvenin 8'i (%5,16) ve 3 yaşından büyük 216 ineğin 20'si (%9,25) seropozitif bulunmuştur. Yaş grupları arasında seropozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Araştırmacılara göre, neosporosisin sığırlardaki seropozitiflik oranı ile yaş arasında bir ilişkinin bulunmadığı ifade edilmiştir.

Yapılan bu araştırmanın sonucundan elde edilen verilere göre, köpeklerde IFA testi ile Kars ilinde genel olarak %25,2 oranında anti-*N. caninum* antikorlarına rastlanılmıştır. Bu prevalans oranı ithal hayvanların girdiği köy grubunda %30,7 bulunurken, ithal hayvan girişi olmayan köy grubunda ise %20,2 oranında bulundu. İki grup arasında seroprevalans farklılığının istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edildi. Yörede köpeklerde tespit edilen bu seroprevalans oranının azımsanmayacak kadar yüksek olduğu ve sığır neosporosisinde köpeklerin potansiyel bir risk faktörü olabileceği düşünülmüştür.

Bu sonuçlara göre Kars ilinde hem sığırlarda hem de köpeklerde neosporosisin seroprevalansının yüksek olmasının birçok sebebi olabileceği akla gelmektedir. Bu sebeplerden biride kırsal alanlarda özellikle hayvanları koruma amaçlı köpeklerin beslendiği ve bu köpeklere çok önem verildiği herkes tarafından bilinmektedir. Özellikle köpeklerin hayvanların yemliklerine, ahırlara girdiği hatta onlarla aynı ortamda uydukları, otlatıldıkları yerlerde birlikte aynı yerden su içtikleri bilinmektedir. Daha da önemlisi atıklı sığır, koyun gibi hayvanların fütusları, uterus artıkları ve sakatat organları bu köpeklere yiyecek olarak verilmektedir. Dolayısıyla bütün bu olumsuz koşullar göz önünde bulundurulduğunda köpeklerin neosporosis gibi birçok paraziter hastalığın yayılmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada da yetiştiriciye yönelik sorulan anket sorularından alınan cevaplar bütün bunları doğrular nitelikte olmuştur. *Neospora* ile benzer akraba protozoon olarak bilinen *Toxoplasma gondii* üzerine daha önce Kars ilinde sığırlarda (6), koyunlarda (172), atlarda (4) ve köpeklerde (107) seroprevalans çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçlarına bakıldığında çok yüksek oranda *T. gondii* seroprevalansı ile karşılaşılmaktadır. Sığırlarda % 93,5 (6), koyunlarda %95,7 (172), atlarda %20,6 (4) ve köpeklerde %96,1 (107) oranlarında anti-*T. gondii* antikorları tespit edilmiştir. Toxoplasmosisle alakalı seroprevalans çalışmalarına bakıldığında son konakları olan kedilerle hayvan yetiştiricilerinin çok içli dışlı yaşadıkları ve kedilerini çiğ pişmemiş et ve sakatat organlarla besledikleri bilinmektedir. Kaldı ki köpekler köylerde hayvan yetiştiricileri için daha da önem arz etmektedir. Bunun için önlemler alınmazsa çok yakın zamanda horizontal bulaşmadan kaynaklanan neosporosisde toxoplasmosis gibi tüm arakonaklarda yüksek prevalanslara

çıkabileceği tahmin edilmektedir. Bunun için yörede hayvan yetiştiricilerin eğitim durumlarının yükseltilmesi ya da eğitilmiş insanların hayvancılıkla uğraşmaları sağlıklı hayvan yetiştirilmesi bakımından önemli görülmektedir. Kişisel gözlemlere göre, hayvan yetiştiricilerinin geleneksel yöntemlerle hayvancılık yapmakta olduklarını, hayvan yetiştiriciliğinde hastalıklarla mücadele, modern yöntemler, danışmanlık hizmetleri alma ve hijyenik kuralları uygulama gibi pek çok yönetime önem vermemektedirler. Örneğin hayvanları atık yapan yetiştiricilerin önemli bir kısmının; atık yapmış yavru ve yavru zarlarını toprağa gömmedikleri, genellikle evin dışında bir yere ya da köpeklerin önüne bıraktıklarını yapılan anketlerde ifade etmişlerdir. Eş zamanlı olarak yörede **Özcan ve Şahin** (183) tarafından Brucella hastalığı hakkında hayvan yetiştiricilerinin bilgi düzeyini ölçmek amacıyla yüz yüze anket uygulama yöntemiyle yaptıkları çalışmada hayvan yetiştiricilerinin toplam %18,3'ünün atık yapan yavruları toprağa gömdüklerini, geriye kalan %81,7'sinin ise atık yavruları dışarı atarak, köyden uzak yere bırakarak veya köpeklere vererek imha ettiklerini saptamıştır. Bu durumda hayvan sahiplerinin atık yapan yavruları gelişigüzel dışarı bırakmaları, bu atıkların evcil ve yabani leş yiyen hayvanlar tarafından tüketilmesiyle, hastalık etkeni farklı odaklara taşınabilir. Aynı zamanda hayvancılığın yoğun yapıldığı yörede böyle bir durumda çevrenin mikrop ve parazitlerle kirletilmesi, sağlıklı hayvanlar içinde büyük bir risk teşkil etmektedir. Paraziter hastalıklarda biyolojik zincir olan; parazit-çevre-duyarlı konak zinciri sürekli tamamlanmaktadır. Bu zincirin önüne geçebilmek, hayvancılıkta ekonomik kayıpları önleyebilmek için yetiştiricilerin bilgi düzeylerinin artırılmasının yanı sıra işi tesadüflere bırakmadan, büyük ekonomik kayıplara neden olan ve atıklara yol açan hastalıklar ile mücadele yöntemlerini etkin biçimde uygulamak gerekmektedir.

Araştırmada ineklerden toplanan kan serum örneklerinden 31 tanesi daha önceden veya örneklerin toplandığı yıl atık yapmış olup, 5'inde (%16,1), 909 normal doğum yapmış inek serumunun ise 70'inde (%7,7) CI-ELISA testi ile pozitiflik belirlendi. Seropozitiflik oranının atık yapanlarda daha yüksek olduğu fakat bu sonuçlarla Kars ilinde *N. caninum*'dan kaynaklanan abortlar olduğunu söylemek imkansız gibidir. Çünkü abort yapan örnek sayısının az olması istatistiki olarak hata verebilir. Ayrıca yörede hayvan yetiştiricilerinin en büyük sorunlarından biri olan

abartların büyük çoğunluğu brucellosis olarak bilinmektedir (103). Bunun dışında miks enfeksiyonlardan kaynaklanan abartlarında olduğu tahmin edilmektedir (103,113). Araştırmanın yapıldığı Kars yöresinde *N. caninum* kaynaklı abartların olduğunu daha güçlü bir şekilde ortaya koyabilmek için geniş çapta atıklı ineklerde epidemiyolojik çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Bu çalışmaların serolojik tanılarının patolojik ve moleküler tekniklerle desteklenmesi gerekmektedir.

Köpek neosporosisinin epidemiyolojisi üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında cinsiyet, yaş ve ırk üzerinde durulmuştur. Kars yöresinde yapılan bu epidemiyolojik çalışmada da, kan alınan 210 köpeğin 171'i erkek, 39'u dişiydi. Erkek köpeklerin 48 inde (% 28,1), dişilerin ise yalnızca 5'inde (% 12,8) *Neospora* saptandı. Cinsiyet grupları arasında pozitiflik yönünden yapılan karşılaştırmada ortaya çıkan farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ( $p<0,05$ ). Köylerde erkek köpeklerin daha çok tercih edilmesinden dolayı, alınan örneklemede erkek köpeklerin sayıca fazla olmasına neden olmuştur. Bu sonuç yörede ki dişi köpeklere göre erkek köpeklerde seroprevalansın daha fazla olduğunu gösterdi. Fakat bunun istatistikte Tip-1 hatadan (örneklem büyüklüğünde uygunsuzluk) kaynaklı olabileceği fikrini de akla getirmiş olabilir. Gruplar arası baktığımızda ithal hayvanların girdiği ve ithal hayvanların girmediği köyler arasında seroprevalans farklılığının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ( $p>0,05$ ). Benzer çalışmalara bakıldığında bazı araştırmacılara göre, neosporosisde seropozitiflik oranı, erkek köpeklerde dişilere göre daha fazla bulunurken (127,243), bazılarına göre, dişilerde erkeklere göre daha fazla bulunmaktadır (239). Bir kısım çalışmalarda ise, erkek ve dişiler arasında seroprevalans farklılığının önemli olmadığı vurgulanmıştır (98,118,203).

Bazı çalışmalarda, köpeklerde *N. caninum*'un seroprevalansının yaş ile arttığını dolayısıyla post-natal enfeksiyonların varlığı bildirilmiştir (31,58,62,98,239). **Cruz-Vazquez ve ark.** (62) tarafından Meksika'da toplam 268 köpekde yapılan seroepidemiyolojik çalışmada, genel seroprevalans yaş gruplarından <1-5 yaş grubunda %25, 6-10 yaş grubunda %59 ve 11-15 yaş grubunda %67 olarak

tespit edilmiştir. Yaş grupları arasındaki prevalans farklılığı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Araştırmada yaş grupları arasında <1-5 yaş grubu riskli grup (OR= 3,11,  $p= 0,001$ ) olarak bildirilmiştir. Benzer çalışma tarafımızdan Kars ilinde yapılmış olup, kan alınan köpeklerden, 1-5 yaş arasındakilerde *N. caninum*'un seroprevalansı %21,1 oranında bulunurken, 6-10 yaş grubundakilerde ise %45,7 olarak saptanmıştır. *Neospora caninum*'un prevalansının köpeklerde yaşla arttığı, yaş grupları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p<0,05$ ) ve enfeksiyonda horizontal bulaşmanın önemli bir rolü olduğu anlaşılmıştır. Fakat gruplar arasında baktığımızda ithal hayvanların girdiği ve ithal hayvanların girmediği köyler arasında hem 1-5 yaş gruplarının kendi aralarında hemde 6-10 yaş gruplarının kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı. Araştırmadan elde edilen bu sonuçlar genel olarak köpeklerde yaş ilerledikçe horizontal bulaşmaya bağlı olarak postnatal enfeksiyonların yüksek olabileceğini düşündürmüştür.

Köpeklerde yapılan seroepidemiolojik çalışmalarda ırkın önemli olmadığı belirtilirken (231), bu çalışmada kan örneği alınan 210 köpekten 79'unu saf ırk diyeceğimiz Kafkas çoban köpeği, kangal, akbaş ve ingiliz setter ırkı oluştururken, geriye kalan 131 köpek ise melez ırk köpeklerden oluşmaktaydı. Yapılan çalışma sonucu saf ırklarda seroprevalans %36,7 olarak bulunurken, melez ırk köpeklerde %18,3 olarak saptandı. Bu verilere göre Kars ilinde *N. caninum*'un epidemiyolojisi yönünden köpeklerde ırkın istatistiksel olarak önemli olduğu anlaşıldı ( $p<0,05$ ). Yörede çiftlik hayvan yetiştiriciliği yapan besicilerin hayvanlarını koruma amaçlı besledikleri köpekleri saf ırk köpeklerden özellikle Kafkas çoban ve kangal ırk köpekleri çoğunlukla seçtiklerini, bu köpeklere daha çok değer verip çiğ etle besledikleri bilinmektedir. Hatta plasenta, abortlu fötüs, ölü doğmuş buzağı gibi artıkları imha etmeyip, köpeklere yedirmeleri sonucu arakonaklardan enfektif dokuları almış olurlar. Oysa ki diğer köpeklere ise halk arasında yal denilen arpa unu ve kaynamamış sıcak sudan yapılan yiyecek verilmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada ırklar arasında ortaya konulan farkın; köpeklerin ırksal farklılıklarından değil, bu tür değerli ırklara hayvan sahibinin kendisince göstermiş olduğu ayrıcalıklı fakat yanlış uygulamaların sebep olma olasılığı da etkilemiş olabilir.

Kars ili merkez ilçeye bağlı 12 köyde yapılan bu epidemiyolojik araştırmada köpeklerde bulunan *N. caninum*'un seropozitifliği gerek dünyada gerekse Türkiye'de köpeklerde yapılan seroepidemiolojik çalışmalarla paralellik gösterdiği tespit edildi. Örneğin dünyada yapılan çalışmalardan Danimarka'da %15,3 (197), Arjantin'de %37,8 (31), İranın Tahran kentinde %19,4 (118), Kuzeydoğu Brezilya'da %28,3 (100), Meksika'da %32 (62), Cezayir'de %21,9 (106) oranında seropozitiflik bildirilmiştir. Türkiye'de ise **Coşkun ve ark.** (63), tarafından 1998 yılının Adana ve Bursa illerinden toplanan 150 köpek serumunda IFAT ile *N. caninum*'un IgG antikorları %10 oranında görüldüğünü ilk olarak bildirmişlerdir. Yine **Batmaz ve ark.** (34), tarafından dokuz haftalık bir dişi Doberman Pincher yavrusunda IFAT ile 1:800 serum antikor titresinde pozitif olarak *N. caninum*'u teşhis etmişlerdir. Teşhis, klinik belirtiler ve serolojik muayene ile konulmuştur. Son yıllarda ise **Yıldız ve ark.** (243) tarafından Kırıkkale şehir merkezi ve köylerinde yaşayan köpeklerde seroprevalans çalışması yapılarak, toplanan 121 köpek kan örneğinde IFAT yöntemiyle %28,9 oranında *N. caninum*'a ait IgG antikorlarının varlığı tespit edilmiştir.

Kars merkeze bağlı 12 odaktan toplanan 125 köpek dışkısının mikroskopik incelenmesi sonucu 10 köpek dışkısında *Neospora*-benzeri ookist varlığı saptandı. Şüpheli ookistlerin görüldüğü köyler Alaca, Büyük Boğatepe, Cumhuriyet, Halefoğlu ve Mezra olup, bu köylerden en yüksek oran %18,8 ile B. Boğatepe köyü, en düşük oran ise %7,7 ile Alaca köyünde görüldü. Diğer araştırma yapılan köylerde ise *Neospora*-benzeri ookistlere rastlanmadı. Araştırmada bu veri sonuçları, neosporosis için son konak olan köpeklerin bir şekilde enfekte abortlu fötüs, plasenta, uterus atıkları ve doku kistleri ile karşılaştıkları ve postnatal olarak enfekte olabildikleri fikrini akla getirmiştir. *Neospora caninum* ookistleri morfolojik olarak kedi dışkısında bulunan *T. gondii* ve *Hammondia hammondi* ookistlerine ve köpek dışkısında bulunan *H. heydorni* ookistlerine benzemekte ve morfolojik olarak ayrımları yapılamamaktadır (71,74,167). Köpeklerde *Neospora caninum* ookistlerinin varlığını kesin tanımlamak için moleküler ve/veya biyolojik çalışmalara

gereksinim vardır. Bu nedenle çalışmada bu ookistler *Neospora*-benzeri ookistler olarak tanımlanmıştır.

Sonuç olarak Kars yöresinde *N.caninum*'a karşı antikörlerin yaygınlığı sığırlarda CI-ELISA ile %7,2, köpeklerde IFAT ile %25,2 oranlarında bulunmuştur. İthal hayvanların girdiği köylerdeki sığırlarda seroprevalans, ithal hayvan girmeyen köylerdeki sığırlardakilerden anlamlı olarak ( $p<0,05$ ) yüksek saptanmıştır. Bu durum enfeksiyonun yöreye ithal hayvanlarla girmiş olabileceğini ve bu köylerin etrafa hastalık yaymada risk grubu olduğunu düşündürmüştür. Gerek sığır ve gerek köpeklerde seroprevalans daha ileri yaşlardaki hayvanlarda daha genç yaştakilere göre anlamlı olarak ( $p<0,05$ ) daha yüksek belirlenmiştir. Bu durum yörede sığır ve köpeklerde postnatal enfeksiyonların olduğunu, köpekleri potansiyel risk faktörü oluşturduğunu düşündürmüştür. Köpek dışkılarında %8 oranında *Neospora* benzeri ookist görülmesine rağmen bunların *Hammondia heydorni* ookistlerinden kesin ayrımı yapılamamıştır.

**ÖZET****Kars Yöresinde Sığır ve Köpeklerde *Neospora caninum* Üzerine Epidemiyolojik Araştırmalar: Gruplar arası Çalışma**

Çalışma, Mart 2008 ile Haziran 2009 tarihleri arasında, Kars yöresinde sığır ve köpeklerde *N.caninum*'un yaygınlığını belirlemek ve ithal sığırların girdiği ve hiç girmediği köy grupları arası karşılaştırma yaparak epidemiyolojik olarak risk faktörlerini ortaya koymak amacıyla yapıldı.

Çalışma alanını temsil etmek üzere yurt dışından ithal sığırların girdiği 6 köy (Grup 1) ve girmediği 6 köy (Grup 2) toplam 12 köy rastgele örnekleme yöntemiyle belirlendi. *N. caninum* antikollarını ortaya koymak için ticari kitler (sığırlar için kompetitive inhibisyon ELISA, CI-ELISA, köpekler için IFAT) kullanıldı. Köpek dışkı örneklerindeki muayenesinde direkt natif dışkı ve Sheather'in şekerli su ile flotation teknikleri kullanıldı. Veriler Ki kare testi ile değerlendirildi.

Kars ilinde CI-ELISA ile *N. caninum*'un serolojik yaygınlığı, her iki gruptan toplam 1100 sığırda %7,2, Grup 1 köylerden 500 sığırda %9,2 ve Grup 2 köylerden 600 sığırda %4,8 olarak bulundu. Köpeklerde aynı oranlar IFAT ile aynı sırayla, 210 köpekte %25,2, 101 köpekte %30,7 ve 109 köpekte %20,2 olarak belirlendi. Hem sığırlarda ve hem köpeklerde gruplara arasındaki yaygınlık oranları farkı anlamlı ( $p<0,05$ ) bulundu. Gerek sığırlarda ve gerek köpeklerde serolojik yaygınlık oranları daha yaşlı hayvanlarda daha genç olanlara göre anlamlı ( $p<0,05$ ) olarak yüksekti. Her iki grup köyden toplam 125 köpeğin dışkı yoklamasında 10 (%8) hayvanda *N. caninum* benzeri ookistler görüldü.

Bu çalışmanın sonuçları, Kars'ta sığırlarda ve köpeklerde postnatal enfeksiyonların geliştiğini ve sığır neosporosisi için epidemiyolojik olarak köpeklerin potansiyel bir risk faktörü olduğunu göstermektedir. Ayrıca ithal sığırların girdiği köyler, sığır ve köpeklerde seroprevalans daha yüksek bulunarak, riskli grup olarak görüldü.

**Anahtar kelimeler:** *Neospora caninum*, sığır, köpek, epidemiyoloji, Gruplar arası karşılaştırma, seroprevalans, ELISA, IFAT.



## SUMMARY

### **Sero-Epidemiological Studies upon *Neospora caninum* in Cattle and Dogs in the Province Kars, Turkey: A cross-sectional Study.**

This study was performed in order to establish the prevalence of *N. caninum* in dogs and cattle in the province of Kars, between March, 2008 and June, 2009. To identify the risk factors epidemiologically, intergroup comparisons were made between villages known to have imported cattle breeds and villages with only indigenous cattle.

Twelve villages were randomly selected as representative of the study area; six of the villages had imported cattle breeds (Group 1), while the remaining six did not (Group 2). Commercial kits (competitive inhibition ELISA, CI-ELISA for cattle, IFAT for dogs) were used to identify antibodies to *N. caninum*. Fecal Direct Smear and Sheather's Sugar Flotation techniques were used for the examination of dog feces samples. The data were evaluated by the chi square test.

CI-ELISA test revealed that seroprevalence of *N. caninum* in Kars Province was 7.2% in a total of 1100 cattle from both group villages; 9.2% in 600 cattle from Group 1 villages and 4.8% in 500 cattle from Group 2 villages. The same seroprevalence rates in dogs by IFAT were 25.2% in a total of 210 dogs, 30.7% in 101 dogs and 20.2% in 109 dogs, respectively. In both, cattle and dogs, the differences in seroprevalence between in the Group 1 and 2 villages were found to be statistically significant ( $p < 0.05$ ). Seroprevalences in older animals, both cattle and dogs, were significantly ( $p < 0.05$ ) higher than those in younger animals. Fecal examination revealed to be *N. caninum*-like oocysts in 10 (8%) of the total 125 dogs from the both group villages.

These results indicate that postnatal infections develop in dogs and cattle in Kars Province, and that dogs are a potential risk factor in neosporosis in cattle. Moreover, as a result of the higher levels of seroprevalence found in dogs and cattle in the villages which have imported cattle breeds, these villages have been identified as a risk group.

**Key Words:** *Neospora caninum*, Cattle, Dog, Epidemiology, Cross-sectional, Seroprevalence, ELISA, IFAT.

## KAYNAKLAR

1. **Aguado-Martinez, A., Álvarez-Garcia, G., Arnaiz-Seco, I., Innes, E., Ortega-Mora, L.M.:** Use of avidity enzyme-linked immunosorbent assay and avidity Western blot to discriminate between acute and chronic *Neospora caninum* infection in cattle. J. Vet. Diagn. Invest., 17: 442-450, 2005.
2. **Ahn, H.J., Kim, S., Kim, D.Y., Nam, H.W.:** ELISA detection of IgG antibody against a recombinant major surface antigen (NC-p43) fragment of *Neospora caninum* in bovine sera. Korean J. Parasitol. 41: 175-177, 2003.
3. **Ak, M.:** Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). 241-259. içinde: Özcel, MA., Altındaş, N. (Ed). Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitol. Dern. Yay. No: 15, İzmir. 1997.
4. **Akça, A., Babür, C., Arslan, M.Ö., Gıcık, Y., Kara, M., Kılıç, S.:** Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in the province of Kars, Turkey. Vet. Med. –Czech. 49(1): 9-13, 2004.
5. **Akça, A., Gökçe, H.İ., Guy, C.S., McGarry, J.W., Williams, D.J.L.:** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in local and imported cattle breeds in the Kars province of Turkey. Res. Vet. Sci. 78: 123-126, 2005.
6. **Akça, A., Mor, N.:** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle in the province of Kars, Turkey as Determined by ELISA. J. Anim. Vet. Adv. 9(5): 876-878, 2010.
7. **Aktaş, M., Şaki, C.E., Altay, K., Şimşek, S., Ütük, A.E., Köroğlu, E., Dumanlı, N.:** Doğu Anadolu bölgesinin bazı illerinde bulunan sığırlarda *Neospora caninum*'un araştırılması. Türkiye Parazitol. Derg. 29 (1): 2005.
8. **Alkan, Z., Özbel, Y., Özensoy, S., Atambay, M.:** Moleküler Biyolojik Yöntemler. 373-411. içinde: Özcel, M.A., Altındaş, N. (Ed). Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitol. Dern. Yay. No: 15, İzmir. 1997.
9. **Almeria, S., De Marez, T., Dawson, H., Araujo, R., Dubey, J.P., Gasbarre, L.C.:** Cytokine gene expression in dams and fetuses after experimental

*Neospora caninum* infection of heifers at 110 days of gestation. Parasite Immunol. 25(7):383-92, 2003.

10. **Altıntaş, N., Yazar, S.:** Western Blot (Immunoblotting). 343-372. içinde: Özcel, MA., Altındaş, N. (Ed). Parazit Hastalıklarında Tanı. T. Parazitol. Dern. Yay. No: 15, İzmir. 1997.
11. **Anderson, M.L., Andrianarivo, A.G., Conrad, P.A.:** Neosporosis in cattle. Anim. Reprod. Sci. 60-61: 417-431, 2000.
12. **Anderson, M.L, Blanchard, P.C., Barr, B.C., Dubey, J.P., Hoffman, R.L., Conrad, P.A.:** *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 198(2):2 41-4, 1991.
13. **Anderson, M.L., Palmer, C. W., Thurmond, M. C., Picanso, J. P., Blanchard, P. C., Breitmeyer, R. E., Layton, A. W., McAllister, M., Daft, B., Kinde, H., Read, D. H., Dubey, J. P., Conrad, P. A., Barr, B. C.:** Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. J. Am. Vet. Med. Assoc. 207: 1206-1210, 1995.
14. **Andrianarivo, A.G., Barr, B.C., Anderson, M.L., Rowe, J.D., Packham, A.E., Sverlow, K.W., Conrad, P.A.:** Immune responses in pregnant cattle and bovine fetuses following experimental infection with *Neospora caninum*. Parasitol Res. 87(10): 817-25, 2001.
15. **Andrianarivo, A.G., Rowe, J.D., Barr, B.C., Anderson, M.L., Packham, A.E., Sverlow, K.W., Choromanski, L., Loui, C., Grace, A., Conrad, P.A.:** A POLYGEN-adjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v./i.m. experimental tachyzoite challenge. Int. J. Parasitol. 30(9): 985-90, 2000.
16. **Antony, A., Williamson, N.B.:** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs of rural or urban origin in central New Zealand. N. Z. Vet. J. 51(5): 232-7, 2003.
17. **Atkinson, R.A., Cook, R.W., Reddacliff, L.A., Rothwell, J., Broady, K.W., Happer, P.A.W., Ellis, JT.:** Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in a dairy cattle herd. Aust. Vet. J. 78 (4): 262-266, 2000.

18. **Bae, J.S., Kim, D.Y., Hwang, W.S., Kim, J.H., Lee, N.S., Nam, H.W.:** Detection of IgG antibody against *Neospora caninum* in cattle in Korea. Korean J. Parasitol. 38 (4): 245-249, 2000.
19. **Barber, J.S., Payne-Johnson, C.E., Trees, A.J.:** Distribution of *Neospora caninum* within the central nervous system and other tissues of six dogs with clinical neosporosis. J. Small Anim. Pract. 37: 568-574, 1996.
20. **Barber, J.S., Trees, A.J.:** Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. Vet. Rec. 139: 439-443, 1996.
21. **Barber, J.S., Trees, A.J.:** Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. Int. J. Parasitol. 28: 57-64, 1998.
22. **Barling, K. S., Sherman, M., Peterson, M.J., Thompson, J.A., McNeill, J.W., Craig, T.M., Adams, L.G.:** Spatial associations among density of cattle, abundance of wild canids, and seroprevalence to *Neospora caninum* in a population of beef calves. J. Am. Vet. Med. Assoc. 217: 1361-1365, 2000..
23. **Barr, B.C., Anderson, M.L., Blanchard, P.C., Daft, B.M., Kinde, H., Conrad, P.A.:** Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. Vet. Pathol. 27(5): 354-61, 1990.
24. **Barr, B.C., Bjerkas, I., Buxton, D., Conrad, P.A., Dubey, J.P., Ellis, J.T., Jenkins, M.C., Jonston, S.A., Lindsay, D.S., Sibley, L.D., Trees, A.J., Wouda, W.:** Neosporosis, report of international *Neospora* workshop. Comp. Con. Educ. 19: 120-126, 1997.
25. **Barr, B.C., Conrad, P.A., Breitmeyer, R., Sverlow, K., Anderson, M.L., Reynolds, J., Chauvet, A.E., Dubey, J.P., Ardans, A.A.:** Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses: four cases (1990-1992). J. Am. Vet. Med. Assoc. 202(1): 113-7, 1993.
26. **Barr, B.C., Conrad, P.A., Dubey, J.P., Anderson, M.L.:** *Neospora*-like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. J. Vet. Diagn. Invest. 3(1):39-46, 1991.
27. **Barr, B.C., Conrad, P.A., Sverlow, K.W., Tarantal, A.F., Hendrickx, A.G.:** Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. Lab Invest. 71(2): 236-42, 1994a.

28. **Barr, B.C., Rowe, J.D., Sverlow, K.W., Bondurant, R.H., Ardans, A.A., Oliver, M.N., Conrad, P.A.:** Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. J. Vet. Diagn. Invest. 6: 207-215, 1994b.
29. **Barta, J.R., Dubey, J.P.:** Characterization of anti-*Neospora caninum* hyperimmune rabbit serum by Western blot analysis and immunoelectron microscopy. Parasitol. Res. 78: 689-694, 1992.
30. **Bartels, C.J.M., Arnaiz-Seco, J.I., Ruiz-Santa-Quitera, A., Björkman, C., Frössling, J., von Blumröder, D., Conraths, F.J., Schares, G., van Maanen, C., Wouda, W., Ortega-Mora, L. M.:** Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, the Netherlands, Spain and Sweden. Vet. Parasitol. 137: 17-27, 2006.
31. **Basso, W., Venturini, L., Venturini, M.C., Moore, P., Rambeau, M., Unzaga, J. M., Campero, C., Bacigalupe, D., Dubey, J. P.:** Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. J. Parasitol. 87 (4): 906-907, 2001.
32. **Baszler, T.V., Adams, S., Vander-Schalie, J., Mathison, B.A., Miladin Kostovic, M.:** Validation of a commercially available monoclonal antibody-based competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to *Neospora caninum* in cattle. J. Clin. Microbiol. 39(11): 3851-3857, 2001.
33. **Baszler, T.V., Knowles, D.P., Dubey, J.P., Gay, J.M., Mathison, B.A., McElwain, T.F.:** Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. J. Clin. Microbiol. 34: 1423-1428, 1996.
34. **Batmaz, H., Sentürk, S., Aydın, L.:** Clinical neosporosis in a dog in Turkey. Aust. Vet. Practit. 34 (3): 108-110, 2004.
35. **Bıyıkoğlu, G., Aksoy, E., Bozkır, M., Küçükayan, U., Ertürk, A.:** İç Anadolu bölgesi sığırlarında *Neospora caninum*'un varlığının araştırılması. XI. Ulusal Parazitol. Kong., 24-28 Eylül, Elazığ, 2001.
36. **Bıyıkoğlu, G., Öncel, T., Bağcı, Ö.:** Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Thrace, Turkey. Indian Vet. J. 82: 345, 2005.

37. **Bjerkas, I., Jenkins, M.C., Dubey, J.P.:** Identification and charecterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 1: 214-221, 1994.
38. **Bjerkas, I., Mohn, S.F., Presthus, J.:** Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Z. Parasitenkd. 70: 271-274, 1984.
39. **Björkman, C., Alenius, S., Emanuelsson, U., Uggla, A.:** *Neospora caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in swedish dairy cows in relation to abortion. Vet. Journal. 159: 201-206, 2000.
40. **Björkman, C., Holmdahl, O.J.M., Uggla, A.:** An indirect enzyme-linked immunoassay (ELISA) for demonstration of antibodies to *Neospora caninum* in serum and milk of cattle. Vet. Parasitol. 68: 251-260, 1997.
41. **Björkman, C., Lundén, A., Holmdahl, J., Barber, J., Trees, A.J., Uggla, A.:** *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. Parasite Immunol. 16: 643-648, 1994.
42. **Björkman, C., McAllister, M.M., Frössling, J., Näslund, K., Leung, F., Uggla, A.:** Application of the *Neospora caninum* IgG avidity ELISA in assessment of chronic reproductive losses after an outbreak of neosporosis in a herd of beef cattle. J. Vet. Diagn. Invest. 15:3-7, 2003.
43. **Björkman, C., Näslund, K., Stenlund, S., Maley, S.W., Buxton, D., Uggla, A.:** An IgG avidity ELISA to dicriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. J. Vet. Diagn. Invest. 11: 41-44, 1999.
44. **Björkman, C., Uggla, A.:** Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. Int. J. Parasitol. 29: 1497-1507, 1999.
45. **Boger, L.A., Hattel, A,L.:** Additional evaluation of undiagnosed bovine abortion cases may reveal fetal neosporosis. Vet. Parasitol. 113: 1-6, 2003.
46. **Buxton, D., Caldow, G.L., Maley, S.W., Marks, J., Innes, E.A.:** Neosporosis and bovine abortion in Scotland. Vet. Rec. 141: 649-651, 1997.
47. **Buxton, D., Maley, S. W. Wright, S., Thomson, K.M., Rae, A.G., Innes, E. A.:** The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. .J. Comp. Path. 118: 267 279, 1998.

48. **Buxton, D., McAllister, M.M., Dubey, J.P.:** The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitol.* 18 (12): 546-552, 2002.
49. **Buxton, D., Wright, S., Maley, S.W., Rae, A.G., Lunden, A., Innes, E.A.:** Immunity to experimental neosporosis in pregnant sheep. *Parasite Immunol.* 23(2): 85-91, 2001.
50. **Caetano-da-Silva, A., Ferre, I., Collantes-Fernandez, E., Navarro, V., Aduriz, G., Ugarte-Garagalza, C., Ortega-Mora, L.M.:** Occasional detection of *Neospora caninum* DNA in frozen extended semen from naturally infected bulls. *Theriogenology.* 62(7): 1329-36, 2004.
51. **Campero, C.M., Moore, D.P., Odeón, A.C., Cipolla, A.L., Odriozola, E.:** Aetiology of bovine abortion in Argentina. *Vet. Res. Com.* 27: 359-369, 2003.
52. **Canada, N., Meireles, C.S., Carvalheira, J., Rocha, A., Sousa, S., Correia da Costa, J.M.:** Determination of an optimized cut-off value for the *Neospora* agglutination test for serodiagnosis in cattle. *Vet. Parasitol.* 121: 225-231, 2004.
53. **Canon-Franco, W.A., Bergamaschi, D.P., Labruna, M.B., Camargo, L.M., Souza, S.L., Silva, J.C., Pinter, A., Dubey, J.P., Gennari, S.M.:** Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. *Vet. Parasitol.* 115(1):71-4, 2003.
54. **Capelli, G., Natale, A., Nardelli, S., Antonio Frangipane di Regalbono, A.F., Pietrobelli, M.:** Validation of a commercially available cELISA test for canine neosporosis against an indirect fluorescent antibody test (IFAT). *Pre. Vet. Med.* 73(4): 315-320, 2006.
55. **Choromanski, L.:** The evaluation of a new vaccine, neoguard™ *Neospora caninum* vaccine, as an aid in reducing abortions in healthy, pregnant heifers challenged with *Neospora caninum*. Intervet Inc: [www.intervetusa.com](http://www.intervetusa.com), 2002.
56. **Cole, R. A., Lindsay, D.S., Dubey, J.P., Blagburn, B.L.:** Detection of *Neospora caninum* in tissue sections using a murine monoclonal antibody. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5: 579-84, 1993.
57. **Cole, R. A., Lindsay, D.S., Dubey, J.P., Toivio-Kinnucan, M.A., Blagburn, B.L.:** Characterization of a murine monoclonal antibody generated against *Neospora caninum* by western blot analysis and immunoelectron microscopy. *Am. J. Vet. Res.* 55: 1717-1722, 1994.

58. Collantes-Fernández, E., Gómez-Bautista, M., Miró, G., Alvarez-García, G., Pereira-Bueno, J., Frisuelos, C., Ortega-Mora, L.M.: Seroprevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* infection in different dog populations in Spain. *Vet Parasitol.* 152(1-2): 148-51, 2008.
59. Collantes-Fernandez, E., Rodriguez-Bertos, A., Arnaiz-Seco, I., Moreno, B., Aduriz, G., Ortega-Mora, L.M.: Influence of the stage of pregnancy on *Neospora caninum* distribution, parasite loads and lesions in aborted bovine foetuses. *Theriogenology.* 65(3): 629-41, 2006.
60. Conrad, P.A., Barr, B.C., Sverlow, K.W., Anderson, M., Daft, B., Kinde, H., Dubey, J.P., Munson, L., Ardans, A.: In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine foetuses. *Parasitol.* 106 (Pt 3): 239-49, 1993.
61. Corbellini, L.G., Smith, D.R., Pescador, C.A., Schmitz, M., Correa, A., Steffen, D.J., Driemeier, D.: Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Prev. Vet. Med.* 74: 130-141, 2006.
62. Cruz-Va'zquez, C., Medina-Esparza, L., Marentes, A., Morales-Salinas, E., Garcia-Va'zquez, Z.: Seroepidemiological study of *Neospora caninum* infection in dogs found in dairy farms and urban areas of Aguascalientes, Mexico. *Vet. Parasitol.* 157: 139-143, 2008.
63. Coşkun, S.Z., Aydın, L., Bauer, C.: Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in domestic dogs in Turkey. *Vet. Rec.* 146: 649, 2000.
64. Davison, H.C., Guy, C.S., McGarry, J.W., Guy, F., Williams, D.J., Kelly, D.F., Trees, A.J.: Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. *Res. Vet. Sci.* 70(2): 163-8, 2001.
65. Davison, H.C., Otter, A., Trees, A.J.: Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. *Int. J. Parasitol.* 29(8): 1189-94, 1999.
66. De Marez, T., Liddell, S., Dubey, J.P., Jenkins, M.C., Gasbarre, L.: Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *Intern. J. Parasitol.* 29: 1647-1657, 1999.



67. De Meerschman, F., Focant, C., Detry, J., Rettigner, C., Cassart, D., Losson, B.: Clinical, pathological and diagnostic aspects of congenital neosporosis in a series of naturally infected calves. *Vet. Rec.* 157: 115-118, 2005.
68. Dijkstra, T., Barkema, H.W., Eysker, M., Hesselink, J.W., Wouda, W.: Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. *Vet. Parasitol.* 105(2): 99-104, 2002.
69. Dijkstra, T., Eysker, M., Schares, G., Conraths, F.J., Wouda, W., Barkema, H.W.: Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *Int. J. Parasitol.* 31(8): 747-52, 2001.
70. Dubey, J.P.: Neosporosis- the first decade of research. *Int. J. Parasitol.* 29: 1485-1488, 1999a.
71. Dubey, J.P.: Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 84: 349-367, 1999b.
72. Dubey, J.P.: Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.* 41 (1): 1-16, 2003.
73. Dubey, J.P., Acland, H.M., Hamir, A.N.: *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. *J. Parasitol.* 78(3): 532-4, 1992.
74. Dubey, J.P., Barr, B.C., Barta, J.R., Bjerkas, I., Björkman, C., Blagburn, B.L., Bowman, D., Buxton, D., Ellis, J.T., Gottstein, B., Hemphill, A., Hill, D.E., Howe, D.K., Jenkins, M.C., Kobayaski, Y., Koudela, B., Marsh, A.E., Mattsson, J.G., McAllister, M.M., Modry, D., Omata, Y., Sibley, L.D., Speer, C.A., Trees, A.J., Uggla, A., Upton, S.J., Williams, D.J.L., Lindsay, D.S.: Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int. J. Parasitol.* 32: 929-946, 2002.
75. Dubey, J.P., Buxton, D., Wouda, W.: Pathogenesis of bovine neosporosis. *J. Comp. Pathol.* :1-23, 2006.
76. Dubey, J.P., Carpenter, J.L., Speer, C.A., Topper, M.J., Uggla, A.: Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192(9): 1269-85, 1988.

77. **Dubey, J.P., Chapman, J.L., Rosenthal, B.M., Mense, M., Schueler, R.L.:** Clinical Sarcocystis neurona, Sarcocystis canis, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* infections in dogs. *Vet. Parasitol.* 137 (1-2): 36-49, 2006.
78. **Dubey, J.P., Dorrough, K.R., Jenkins, M.C., Liddell, S., Speer, C.A., Kwok, O.C.H., Shen, S.K.:** Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. *Int. J. Parasitol.* 28: 1293-1304, 1998.
79. **Dubey, J.P., Hartley, W.J., Lindsay, D.S.:** Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197(8): 1043-4, 1990.
80. **Dubey, J.P., Hartley, W.J., Lindsay, D.S., Topper, M.J.:** Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. *J. Parasitol.* 76(1): 127-30, 1990.
81. **Dubey, J.P., Hattel, A.L., Lindsay, D.S., Topper, M.J.:** Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 193(10):1259-63, 1988.
82. **Dubey, J.P., Jenkins, M.C., Adams, D.S., Gay, J.M., Baszler, T.V., Blagburn, B.L., Thulliez, P.:** Antibody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Parasitol.* 83: 1063-1069, 1997.
83. **Dubey, J.P., Liddell, S., Mattson, D., Speert, C.A., Howe, D.K., Jenkins, M.C.:** Characterization of the Oregon isolate of *Neospora hughesi* from a horse. *J. Parasitol.* 87(2): 345-53, 2001.
84. **Dubey, J.P., Lindsay, D.S.:** Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 50: 1578-9, 1989a.
85. **Dubey, J.P., Lindsay, D.S.:** Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. *J. Parasitol.* 75: 765-71, 1989b.
86. **Dubey, J.P., Lindsay, D.S.:** *Neospora caninum* induced abortion in sheep. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2(3):230-3, 1990.
87. **Dubey, J.P., Lindsay, D.S.:** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 67(1-2): 1-59, 1996.

88. Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Adams, D.S., Gay, J.M., Baszler, T.V., Blagburn, B.L., Thulliez, P.: Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.* 57: 329–336, 1996.
89. Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Anderson, M.L., Davis, S.W., Shen, S.K.: Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201: 709-13, 1992.
90. Dubey, J.P., Morales, J.A., Villalobos, P., Lindsay, D.S., Blagburn, B.L., Topper, M.J.: Neosporosis-associated abortion in a dairy goat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208(2): 263-5, 1996.
91. Dubey, J.P., Porterfield, M.L.: *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. *J. Parasitol.* 76(5): 732-4, 1990.
92. Dubey, J.P., Schares, G.: Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.* 2006.
93. Dubey, J.P., Schares, G., Ortega-Mora, L.M.: Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Mikrobiol. Rev.* 20(2): 323-367, 2007.
94. Dubey, J.P., Thulliez, P.: Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild animals. *J. Parasitol.* 91 (5): 1217-8, 2005.
95. Eleni, C., Crotti, S., Manuali, E., Costarelli, S., Filippini, G., Moscati, L., Magnino, S.: Detection of *Neospora caninum* in an aborted goat foetus. *Vet Parasitol.* 123(3-4):271-4, 2004.
96. Ellis, J., Luton, K.P., Baverstock, R., Brindley, P.J., Nimmo, K.A., Johnson, A.M.: The phylogeny of *Neospora caninum*. *Mol. Bioch. Parasitol.* 64: 303-311, 1994.
97. Ferre, I., Aduriz, G., Del-Pozo, I., Regidor-Cerrillo, J., Atxaerandio, R., Collantes-Fernandez, E., Hurtado, A., Ugarte-Garagalza, C., Ortega-Mora, L.M.: Detection of *Neospora caninum* in the semen and blood of naturally infected bulls. *Theriogenology.* 63(5): 1504-18, 2005.
98. Ferroglio, E., Pasino, M., Ronco, F., Benà, A., Trisciuglio, A.: Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in urban and rural dogs in north-west Italy. *Zoonoses Public Health.* 54(3-4): 135-9, 2007.

99. **Figliuolo, L.P., Kasai, N., Ragozo, A.M., de Paula, V.S., Dias, R.A., Souza, S.L., Gennari, S.M.:** Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from Sao Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.* 123(3-4):161-6, 2004.
100. **Figueredo, L.A., Dantas-Torres, F., de Faria, E.B., Gondim, L.F.P., Simões-Mattos, L., Brandão-Filho, S.P., Mota, R.A.:** Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. *Vet. Parasitol.* 157(1-2): 9-13, 2008.
101. **Fioretti, D. P., Rosignoli, L., Ricci, G., Moretti, A., Pasquali, P., Polidori, G.A.:** *Neospora caninum* infection in a clinically healthy calf: parasitological study and serological follow-up. *J. Vet. Med. B* 47: 47–53, 2000.
102. **Fujii, T.U., Kasai, N., Nishi, S.M., Dubey, J.P., Gennari, S.M.:** Seroprevalence of *Neospora caninum* in female water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the southeastern region of Brazil. *Vet. Parasitol.* 99(4): 331-4, 2001.
103. **Genç, O., Oflu, S., Şahin, M., Aydın, F., Gökçe, H.İ.:** Seroprevalence of brucellosis and leptospirosis in aborted dairy cows. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 29: 359-366, 2005.
104. **Gennari, S.M., Rodrigues, A.A., Viana, R.B., Cardoso, E.C.:** Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the Northern region of Brazil. *Vet. Parasitol.* 5134(1-2): 169-71, 2005.
105. **Georgieva, D.A., Prelezov, P.N., Koinarski, V.Ts.:** *Neospora caninum* and neosporosis in animals -A review. *Bulgarian J. Vet. Med (BJVM).* 9(1):1-26, 2006
106. **Ghalmi, F., China, B., Kaidi, R., Losson, B.:** First epidemiological study on exposure to *Neospora caninum* in different canine populations in the Algiers District (Algeria). *Parasitol. Intern.* 58: 444–450, 2009.
107. **Gıcık, Y., Sarı, B., Babür, C., Çelebi, B.:** Kars yöresinde köpeklerde *Toxoplasma gondii* ve *Listeria monocystogenes*'in seroprevalansı. *Türkiye Parazitol. Derg.* 34(2): 86-90, 2010.
108. **Gondim, L.F.P.:** *Neospora caninum* in wildlife. *Trends Parasitol.* 22(6): 247-52, 2006.

- 109. Gondim, L.F.P., Gao, L., McAllister, M.M.:** Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *J. Parasitol.* 88(6): 1159-1163, 2002.
- 110. Gondim, L.F.P., McAllister, M.M., Anderson-Sprecher, R.C., Björkman, C., Lock, T.F., Firkins, L.D., Gao, L., Fischer, W.R.:** Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. *J. Parasitol.* 90(6): 1394-400, 2004a.
- 111. Gondim, L.F.P., McAllister, M.M., Mateus-Pinilla, N.E., Pitt, W.C., Mech, L.D., Nelson, M.E.:** Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. *J. Parasitol.* 90 (6): 1361-1365, 2004b.
- 112. Gondim, L.F.P., McAllister, M.M., Pitt, W.C., Zemlicka, D.E.:** Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 34: 159-161, 2004c.
- 113. Gökçe, H.İ., Kaçar, C., Genç, O., Sözmen, M.:** Seroprevalence of *Chlamydophila abortus* in aborting ewes and dairy cattle in the North-East part of Turkey. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 51: 9-13, 2007.
- 114. Graham, D. A., Calvert, V., Whyte, M. ve Marks, J.:** Absence of serological evidence for human *Neospora caninum* infection. *Vet. Rec.* 144: 672–673, 1999.
- 115. Guy, C.S., Williams, D.J.L., Kelly, D.F., McGarry, J.W., Guy, F., Bjorkman, C., Smith, R.F., Trees, A.J.:** *Neospora caninum* in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *Vet. Rec.* 149(15): 443-9, 2001.
- 116. Gürüz, Y., Korkmaz, M.:** Özellikli tanı yöntemleri. 293-320 . içinde: Özcel, MA., Altındaş, N. (Ed). *Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitol. Dern. Yay. No: 15, İzmir.* 1997.
- 117. Haddad, J.P.A., Ian R. Dohoo, I.R., VanLeewen, J.A.:** A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle — a Canadian perspective. *Can. Vet. J.* 46(3): 230–243, 2005.
- 118. Haddadzadeh, H.R., Sadrebazaz, A., Malmasi, A., Ardakani, H.T., Nia, P.K., Sadreshirazi, N.S.:** Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in

- dogs from rural and urban environments in Tehran, Iran. *Parasitol. Res.* 101: 1563-1565, 2007.
- 119. Hall, C.A., Reichel, M.P., Ellis, J.T.:** *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Vet. Parasitol.* 128: 231-241, 2005.
- 120. Hassig, M., Sager, H., Reitt, K., Ziegler, D., Strabel, D., Gottstein, B.:** *Neospora caninum* in sheep: a herd case report. *Vet. Parasitol.* 117(3):213-20, 2003.
- 121. Helmick, B., Otter, A., McGarry, J., Buxton, D.:** Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. *Res. Vet. Sci.* 73(2):187-9, 2002.
- 122. Hemphill, A.:** The host-parasite relationship in neosporosis. *Adv. Parasitol.* 43 47-104, 1999.
- 123. Hemphill, A., Gottstein, B.:** A European perspective on *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 30(8):877-924, 2000.
- 124. Heuer, C., Nicholson, C., Russel, D., Weston, J.:** Field study in dairy cattle from New Zealand. *Vet. Parasitol.* 125:137–146, 2004.
- 125. Hill, D.E., Liddell, S., Jenkins, M.C., Dubey, J.P.:** Specific detection of *Neospora caninum* oocysts in fecal samples from experimentally-infected dogs using the polymerase chain reaction. *J. Parasitol.* 87(2): 395-8, 2001.
- 126. Ho, M.S., Barr, B.C., Rowe, J.D., Anderson, M.L., Sverlow, K.W., Packham, A., Marsh, A.E., Conrad, P.A.:** Detection of *Neospora* sp. from infected bovine tissues by PCR and probe hybridization. *J. Parasitol.* 83(3):508-14, 1997.
- 127. Hornok, S., Edelhofer, R., Foka, E., Berta, K., Fejes, P., Repasi, A., Farkas, R.:** Canine neosporosis in Hungary: Screening for seroconversion of household, herding and stray dogs. *Vet. Parasitol.* 137: 197–201, 2006.
- 128. Howe, D.K., Tang, K., Conrad, P.A., Sverlow, K., Dubey, J.P., Sibley, L.D.:** Sensitive and specific identification of *Neospora caninum* infection of cattle based on detection of serum antibodies to recombinant Ncp29. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9(3): 611-615, 2002.

129. Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, İl ve İlçelerimize Ait İstatistiki Veriler, Kars, <http://www.meteor.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?m=KARS> , Erişim: 15.07.2010.
130. Huong, L.T.T., Ljungström, B.L., Uggl, A., Björkman, C.: Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. *Vet. Parasitol.* 75: 53-57, 1998.
131. Innes, E.A., Lunden, A., Esteban, I., Marks, J., Maley, S., Wright, S. E., Rae, A., Harkins, D., Vermeulen, A., McKendrick, I.J., Buxton, D.: A previous infection with *Toxoplasma gondii* does not protect against a challenge with *Neospora caninum* in pregnant sheep. *Parasite Immunol.* 23(3):121-32, 2001.
132. Innes, E.A., Wright, S.E., Maley, S., Rae, A., Schock, A., Kirvar, E., Bartley, P., Hamilton, C., Carey, I.M., Buxton, D.: Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.* 31: 1523-1534, 2001.
133. İça, A., Yıldırım, A., Düzlü, Ö., İnci, A.: Kayseri yöresinde sığırlarda *Neospora caninum*'un seroprevalansı. *Türkiye Parazitol. Derg.* 30(2): 92-94, 2006.
134. Jacobson, L.S., Jardine, J.E.: *Neospora caninum* infection in three Labrador littermates. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 64(1): 47-51, 1993.
135. Jakubek, E. B., Lunden, A., Uggl, A.: Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. infections in Swedish horses. *Vet. Parasitol.* 138 (3-4): 194-199, 2006.
136. Jardine, J.E.: The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dog: absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin. *Vet. Parasitol.* 62: 231-240, 1996.
137. Jenkins, M.C., Fetterer, R., Schares, G., Björkman, C., Wapenaar, W., McAllister, M., Dubey, J.P.: HPLC purification of recombinant NCGRA6 antigen improves enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.* 131: 227-234, 2005.
138. Jensen, A.M., Björkman, C., Kjeldsen, A.M., Wedderkopp, A., Willadsen, C., Uggl, A., Lind, P.: Associations of *Neospora caninum*

seropozitivite with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 40: 151-163, 1999.

139. **Khan, I. A., Schwartzman, J. D., Fonseka, S., Kasper, L. H.:** *Neospora caninum*: Role for immune cytokines in host immunity. *Exp. Parasitol.* 85(1): 24-34, 1997.
140. **Kim, J.H., Kang, M.S., Lee, B.C., Hwang, W.S., Lee, C.W., So, B.J., Dubey, J.P., Kim, D.Y.:** Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs and raccoon dogs in Korea. *Korean J. Parasitol.* 41 (4): 243-245, 2003.
141. **Kobayashi, Y., Yamada, M., Omata, Y., Koyama, T., Saito, A., Matsuda, T., Okuyama, K., Fujimoto, S., Furuoka, H., Matsui, T.:** Naturally-occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. *J. Parasitol.* 87(2):434-6, 2001.
142. **Koiwai, M., Hamaoka, T., Haritani, M., Shimizu, S., Kimura, K., Yamane, I.:** Proportion of abortions due to neosporosis among dairy cattle in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 67 (11): 1173-1175, 2005.
143. **Koiwai, M., Hamaoka, T., Haritani, M., Shimizu, S., Zeniya, Y., Eto, M., Yokoyama, R., Tsutsui, T., Kimura, K., Yamane, I.:** Nationwide seroprevalence of *Neospora caninum* among dairy cattle in Japan. *Vet. Parasitol.* 135(2):175-9, 2006.
144. **Korgun, E.T.:** İmmunohistokimyasal uygulamaları ve örnek protokoller. 285-306 içinde: Demir, R. (Ed). *Histolojik Boyama Teknikleri-Başvuru Kitabı*. Palme Yayıncılık, Ankara, 2001.
145. **Koyama, T., Kobayashi, Y., Omata, Y., Yamada, M., Furuoka, H., Maeda, R., Matsui, T., Saito, A., Mikami, T.:** Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a pregnant sheep. *J. Parasitol.* 87(6):1486-8, 2001.
146. **Kramer, A.M., Wouda, W., Kooistra, H.S.:** Clinical neosporosis in the dog: a review. *Tijdschr Diergeneeskd.* 125(20):609-13, 2000.
147. **Kul O., Kabakçı, N., Yıldız, K., Öcal, N., Kalender, H., İlkme, N.A.:** *Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle: The first clinical neosporosis report in Turkey. *Vet. Parasitol.* 159: 69-72, 2009.
148. **Kurtdede, A., Küplülü, Ş., Ural, K., Cıngı, C.Ç., Güzel, M., Karakurum, M.Ç., Hatdardedeoğlu, A.E.:** Serodiagnosis of bovine neosporosis with



immunocomb assay in Ankara region. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 53: 207-209, 2006.

149. **Lally, N.C., Jenkins, M.C., Dubey, J.P.:** Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 3(3):275-9, 1996.
150. **Liao, M., Zhang, S., Xuan, X., Zhang, G., Huang, X., Igarashi, I., Fujisaki, K.:** Development of rapid immunochromatographic test with recombinant NcSAG1 for detection of antibodies to *Neospora caninum* in cattle. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 12(7): 885-887, 2005.
151. **Lindsay, D.S., Dubey, J.P.:** Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. Am. J. Vet. Res. 50(11): 1981-1983, 1989.
152. **Lindsay, D.S., Dubey, J.P.:** Effects of sulfadiazine and amprolium on *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) infections in mice. J. Parasitol. 76(2):177-9, 1990.
153. **Lindsay, D.S., Dubey, J.P., Duncan, R.B.:** Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. Vet. Parasitol. 82 (4): 327-33, 1999a.
154. **Lindsay, D.S., Dubey, J.P., McAllister, M.:** *Neospora caninum* and the potential for parasite transmission. Small Anim. 21 (4): 317-320, 1999b.
155. **Lindsay, D.S., Kelly, E.J., McKown, R.D., Stein, F.J., Plozer, J., Herman, J., Blagburn, B.L., Dubey, J.P.:** Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. J. Parasitol. 82(4): 657-9, 1996.
156. **Lindsay, D.S., Rippey, N.S., Powe, T.A., Sartin, E.A., Dubey, J.P., Blagburn, B.L.:** Abortions, fetal death, and stillbirths in pregnant pygmy goats inoculated with tachyzoites of *Neospora caninum*. Am. J. Vet. Res. 56(9): 1176-80, 1995.
157. **Lindsay, D.S., Upton, S.J., Dubey, J.P.:** A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. Int. J. Parasitol. 29(10): 1521-3, 1999c.
158. **Lobato, J., Silva, D.A.O., Mineo, T.W.P., Jodi D. H. F. Amaral, J.D.H.F., Segundo, G.R.S., Costa-Cruz, J.M., Ferreira, M.S., Borges, A.S., Mineo, J.R.:** Detection of immunoglobulin-G antibodies to *Neospora caninum* in

humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. *Clin. Vaccine Immunol.* 13(1): 84–89, 2006.

159. **Louie, K., Sverlow, K.W., Barr, B.C., Anderson, M.L., Conrad, P.A.:** Cloning and characterization of two recombinant *Neospora* protein fragments and their use in serodiagnosis of bovine neosporosis. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 4: 692-699, 1997.
160. **Mainar-Jaime, R.C., Thurmond, M.C., Berzal-Herranz, B., Hietala, S.K.:** Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet. Rec.* 145: 72-75, 1999.
161. **Maley, S.W., Buxton, D., Thomson, K.M., Schriefer, C.E.S., Innes, E.A.:** Serological analysis of calves experimentally infected with *Neospora caninum*: a 1- year study. *Vet. Parasitol.* 96: 1-9, 2001.
162. **Marsh, A.E., Barr, B.C., Packham, A.E., Conrad, P.A.:** Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *J. Parasitol.* 84(5): 983-91, 1998.
163. **McAllister, M.M., Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Jolley, W.R., Wills, R.A., McGuire, A.M.:** Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 28: 1473-1478, 1998.
164. **McAllister, M.M., Jolley, W.R., Wills, R.A., D. S. Lindsay, D.S., McGuire, A.M., Tranas, J. D.:** Oral inoculation of cats with tissue cysts of *Neospora caninum*. *Am. J. Vet. Res.* 59: 441–444, 1988.
165. **McChan, C.M., Vyse, A. J., Salmon, R. L., Thomas, D., Williams, D.J.L., McGarry, J.W., Pebody, J.R., Trees, A.J.:** Lack of serologic evidence of *Neospora caninum* in humans, England. *Emerg. Infect. Dis.* • [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid) • 14(6): 978-980, 2008
166. **McGarry, J.W., Guy, F., Trees, A. J., Williams, D.J.L., Davison, H.C., Björkman, C.:** Validation and application of an inhibition ELISA to detect serum antibodies to *Neospora caninum* in different host species. *Int. J. Parasitol.* 30: 880-884, 2000.

167. **Mehlhorn, H., Heydorn, A.O.:** *Neospora caninum*: Is it really different from *Hammondia heydorni* or is it a strain of *Toxoplasma gondii*? An opinion. Parasitol. Res. 86: 169-178, 2000.
168. **Milne, .E., Crawshaw, M., Brocklehurst, S., Wright, S., Maley, S., Innes, E.:** Associations between *Neospora caninum* specific antibodies in serum and milk in two dairy herds in Scotland. Pre. Vet. Med. 77: 31-47, 2006.
169. **Moore, D.P.:** Neosporosis in South America. Vet. Parasitol. 127: 87-97, 2005.
170. **Moore, D.P., Campero, C.M., Odeón, A.C., Posso, M.A., Cano, D., Leunda, M.R., Basso, W., Venturini, M.C., Späth, E.:** Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. Vet. Parasitol. 107: 303-316, 2002.
171. **Moore, D.P., Pérez, A., Agliano, S., Brace, M., Cantón, G., Cano, D., Leunda, M.R., Odeón, A.C., Odriozola, E., Campero, C.M.:** Risk factors associated with *Neospora caninum* infections in cattle in Argentina. Vet. Parasitol. 161(1-2): 122-125, 2009.
172. **Mor, N., Arslan, M.Ö.:** Kars Yöresindeki Koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansı. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 13 (2): 165-170, 2007.
173. **Moskwa, B., Cabaj, W., Pastusiak, K., Bien, J.:** The suitability of milk in detection of *Neospora caninum* infection in cows. Acta Parasitol. 48: 138-141, 2003.
174. **Moskwa, B., Pastusiak, K., Bien, J., Cabaj, W.:** The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. Parasitol. Res. 100: 633-636, 2007.
175. **Nam, H.W., Kang, S.W., Choi, W.Y.:** Antibody reaction of human anti-*Toxoplasma gondii* positive and negative sera with *Neospora caninum* antigens. Korean J. Parasitol. 36(4): 269-75, 1998.
176. **Nishikawa, Y., Kousaka, Y., Tragoolpua, K., Xuan, X., Makala, L., Fujisaki, K., Mikami, T., Nagasawa, H.:** Characterization of *Neospora caninum* surface protein NcSRS2 based on baculovirus expression system and its application for serodiagnosis of *Neospora* infection. J. Clin. Microbiol. 39(11): 3987-3991, 2001.

177. **Okeoma, C.M., Williamson, N.B., Pomroy, W.E., Stowell, K.M., Gillespie, L.M.:** Isolation and molecular characterisation of *Neospora caninum* in cattle in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 52(6): 364-70, 2004.
178. **Osawa, T., Wastling, J., Maley, S., Buxton, D., Innes, E.A.:** A multiple antigen ELISA to detect *Neospora*-specific antibodies in bovine sera, bovine foetal fluids, ovine and caprine sera. *Vet. Parasitol.* 79: 19-34, 1998.
179. **Osburn, B.I.:** Ontogeny of immune responses in cattle. In *The ruminant immune system in health and disease*. W. I. Morrison (ed). Cambridge University Press. Cambridge, U.K. P: 252-260, 1986.
180. **Otranto, D., Llazari, A., Testini, G., Traversa, D., di Regalbono, A.F., Badan, M., Capelli, G.:** Seroprevalence and associated risk factor of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. *Vet. Parasitol.* 118: 7-18, 2003.
181. **Ould-Amrouche, A., Klein, F., Osdoit, C., Mohamed, H.O., Touratier, A., Sanaa, M., Mialot, J.P.:** Estimation of *Neospora caninum* seroprevalence in dairy cattle from Normandy, France. *Vet. Res.* 30:531–538, 1999.
182. **Öncel, T., Bıyıkoğlu, G.:** Sakarya yöresi süt sığırlarında Neosporosis caninum. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.* 22 (1-2-3): 87-89, 2003.
183. **Özcan, H., Şahin, M.:** Hayvan yetiştiricilerinin Brusella hastalığı hakkındaki bilgi düzeylerinin araştırılması. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, Kars, 2009.
184. **Özcel, M.A., Üner, A., Ertuğ, S.:** Immunofloresans yöntemi. 215-240. içinde: Özcel, MA., Altındaş, N. (Ed). *Parazit Hastalıklarında Tanı*. Türkiye Parazitol. Dern. Yay. No: 15, İzmir. 1997.
185. **Packham, A.E., Sverlow, K., Conrad, P.A., Loomis, E.F., Rowe, J.D., Anderson, M.L., Marsh, A.E., Cray, C., Barr, B.C.:** A modified agglutination test for *Neospora caninum*: Development, optimization, and comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 5 (4): 467-473, 1998.
186. **Paré J., Hietala S.K., Thurmond, M.C.:** An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7: 352-9, 1995.

187. **Paré, J., Thurmond, M.C., Hietala S.K.:** *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J. Parasitol.* 83: 82-87, 1997.
188. **Parish, S.M., Maag-Miller, L., Beser, T.E., Weidner, J.P., McElwain, T., Knowles, D.P., Leathers, C.W.:** Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 15; 191(12):1599–1600, 1987.
189. **Pasquali, P., Mandara, M.T., Adamo, F., Ricci, G., Polidori, G.A., Dubey, J.P.:** Neosporosis in a dog in Italy. *Vet. Parasitol.* 77: 297-299, 1998.
190. **Patitucci, A.N., Phil, M., Perez, M.J., Carcamo, C.M., Baeza, L.:** Presencia de anticuerpos sericos contra *Neospora caninum* en equinos en Chile. *Arch. Med. Vet.* 36 (2): 203-206, 2004.
191. **Peters, M., Wagner, F., Schares, G.:** Canine neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany. *Parasitol. Res.* 86: 1-7, 2000.
192. **Petersen, E., Lebech, M., Jensen, L., Lind, P., Rask, M., Bagger, P., Björkman, C., Uggla, A.:** *Neospora caninum* infection and repeated abortions in humans. *Emerg. Infec. Dis.* 5 (2): 278-280, 1999.
193. **Petrie, A., Sabin, C.:** *Medical Statistics at a Glance.* Blackwell Science Ltd. London, UK. P: 61-64, 2000.
194. **Piergili Fioretti, D., Rosignoli, L., Ricci, G., Moretti, A., Pasquali, P., Polidori, G.A.:** *Neospora caninum* infection in a clinically healthy calf: parasitological study and serological follow-up. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health.* 47(1): 47-53, 2000.
195. **Pişkin, F.Ç., Ütük, A.E.:** Prevalence of *Neospora caninum* in cows with stillbirth and abortion. *Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg.* 20:23-26, 2009.
196. **Quintanilla-Gozalo, A., Pereira-Bueno, J., Tabares, E., Innes, E.A., Gonzalez-Paniello, R., Ortega-Mora, L.M.:** Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. *Int. J. Parasitol.* 29: 1201–1208, 1999.
197. **Rasmussen, K., Jensen, A.L.:** Some epidemiologic features of canine neosporosis in Denmark. *Vet. Parasitol.* 62: 345-349, 1996.

198. **Razmi, G.R., Mohammadi, G.R., Garrosi, T., Farzaneh, N., Fallah, A.H., Maleki, M.:** Seroepidemiology of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Mashhad area, Iran. *Vet. Parasitol.* 135: 187-189, 2006.
199. **Reichel, M.P.:** *Neospora* infection in New Zealand. *Surveillance.* 27 (2): 16-18, 2000.
200. **Reichel, M.P., Drake, J.M.:** The diagnosis of *Neospora* abortions in cattle. *N. Z. Vet. J.* 44: 151-154, 1996.
201. **Romand, S., Thulliez, P., Dubey, J.P.:** Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Parasitol. Res.* 84: 50-53, 1998.
202. **Romero, J.J., Pérez, E., Frankena, K.:** Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. *Vet. Parasitol.* 123(3-4): 149-159, 2004.
203. **Sánchez, G.F., Morales, S.E., Martínez, M.J., Trigo, J.F.:** Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. *Canadian J. Vet. Res.* 67: 142-145, 2003.
204. **Sanderson, M.W., Gay, J.M., Baszler, T.V.:** *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the Northwestern United States. *Vet. Parasitol.* 90: 15-24, 2000.
205. **Sawada, M., Kondo, H., Tomioka, Y., Park, C.H., Morita, T., Shimada, A., Umemura, T.:** Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected adult dairy cow. *Vet. Parasitol.* 90(3): 247-252, 2000.
206. **Sawada, M., Park, C.H., Kondo, H., Morita, T., Shimada, A., Yamane, I., Umemura, T.:** Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. *J. Vet. Med. Sci.* 60 (7): 853-854, 1998.
207. **Schaes, G., Dubremetz, J.F., Dubey, J.P., Barwald, A., Loyens, A., Conraths F.J.:** *Neospora caninum*: identification of 19-, 38-, and 40-kDa surface antigens and a 33-kDa dense granule antigen using monoclonal antibodies. *Exp. Parasitol.* 92(2): 109-119, 1999.
208. **Schaes, G., Heydorn, A.O., Cüppers, A., Mehlhorn, H., Geue, L., Peters, M., Conraths, F.J.:** In contrast to dogs, red foxes (*Vulpes vulpes*) did not shed

- Neospora caninum* upon feeding of intermediate host tissues. Parasitol Res. 88: 44-52, 2002.
- 209. Schares, G., Peters, M., Wurm, R., Bärwald, A., Conraths, F.J.:** The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. Vet. Parasitol. 80 (2): 87-98, 1998.
- 210. Sevgili, M., Altaş, M.G.:** Sığırlarda neosporosis. Fırat Üniv. Sağlık Bil. Derg. 20 (1): 79-83, 2006.
- 211. Sevgili, M., Altaş, M.G., Keskin, O.:** Seroprevalance of *Neospora caninum* in cattle in the province of Şanlıurfa. Turk J. Vet. Anim. Sci. 29: 127-130, 2005.
- 212. Sevgili, M., Çımtay, İ., Keskin, O.:** Şanlıurfa yöresinde keçilerde *Neospora caninum* enfeksiyonunun seroprevalansı. Türkiye Parazitol. Derg. 27 (4): 249-251, 2003.
- 213. Sevgili, M., Şahin, T., Çımtay, İ., Çetin, H., Keskin, O., Gökçen, A.:** Şanlıurfa yöresi safkan arap kısıraklarında *Neospora caninum* antikorlarının belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniv. Vet. Fak. Derg. 14 (2): 15-17, 2003.
- 214. Śmielewska-Loś, E., Pacoń, J., Jańczak, M., Płoneczka, K.:** Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wildlife and farmed foxes (*Vulpes vulpes*). Vet. Med. 6 (2): 1-6, 2003.
- 215. Söndgen, P., Peters, M., Bärwald, A., Wurm, R., Holling, F., Conraths, F.J., Schares, G.:** Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. Vet. Parasitol. 102: 279-290, 2001.
- 216. Steinman, A., Shpigel, N.Y., Mazar, S., King, R., Baneth, G., Savitsky, I., Shkap, V.:** Low seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild canids in Israel. Vet. Parasitol. 137: 155-158, 2006.
- 217. Thilsted, J.P., Dubey, J.P.:** Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. J. Vet. Diagn. Invest. 1(3):205-9, 1989.
- 218. Thurmond, M.C., Hietala, S.K.:** Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. Am. J. Vet. Res. 57(11): 1559-62, 1996.
- 219. Thurmond, M.C., Hietala, S.K.:** Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. J. Am. Vet. Med. Assoc. 210(5):672-4, 1997.

220. **Toolan D.P.:** *Neospora caninum* infections in Australia and New Zealand. Aust. Vet. J. 78: 258-261, 2003.
221. **Tranas, J., Heinzen, R.A., Weiss, L.M., McAllister, M.M.:** Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 6(5): 765-767, 1999.
222. **Trees, A.J., Davison, H.C., Innes, E.A., Wastling, J.M.:** Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. Inter. J. Parasitol. 29: 1195-1200, 1999.
223. **Trees, A. J., Williams, D. J. L.:** Neosporosis in the United Kingdom. Int. J. Parasitol. 30: 891–893, 2000.
224. **Tuzcu, M., Çiftçi, M.K.:** Neosporozis. Veterinarium. 11(1-2): 49-53, 2000.
225. **Türkiye İstatistik Kurumu.** Bölgesel Göstergeler Tra2. Ağrı, Kars, Iğdır, Ardahan. Yayın No: 3402, ISSN: 1307-0894, 2009.
226. **Tüzer, E., Toparlak, M.:** Veteriner Protozooloji. İst. Üniv. Vet. Fak. Yayını, Ders Notu No: 105, İstanbul. 1999.
227. **Umur, Ş., Arslan, M.Ö.:** Evcil hayvanlarda neosporosis. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 3(1): 115-121, 1997.
228. **Uzêda, R.S., Pinheiro, A.M., Fernández, S.Y., Ayres, M.C.C., Gondim, L.F.P., Almeida, M.A.O.:** Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahai, Brazil. Small Rum. Res. 70 (2-3), 2007.
229. **Vural, G., Aksoy, E., Bozkır, M., Kuçukayan, U., Ertürk, A.:** Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle herds in central Anatolia, Turkey. Veterinarski Arhiv. 76(4): 343-349, 2006.
230. **Walton, J.K.:** *Neospora caninum*: Studies toward isolation in New Zealand. Thesis Master of Veterinary Studies. At Massey University, Palmerston North, New Zealand, 2008.
231. **Wanha, K., Edelhofer, R., Gabler-Eduardo, C., Prosl, H.:** Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. Vet. Parasitol. 128: 189-193, 2005.
232. **Wapenaar, W., Barkema, H.W., VanLeeuwen, J.A., McClure, J.T., O’Handley, R.M., Kwok, O.C.H., Thulliez, P., Dubey, J.P., Jenkins, M.C.:**



Comparison of serological methods for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in cattle. *Vet. Parasitol.* 143: 166-173, 2007.

- 233. Wapenaar, W., Jenkins, M.C., O’Handley, R.M., Barkema, H.W.:** *Neospora caninum*-like oocysts observed in feces of free ranging red foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*) based on microscopic examination, PCR and DNA-sequencing. *J. Parasitol.* 92:1270–1274, 2006.
- 234. West, D.M., Pomroy, W.E., Collett, M.G., Hill, F.I., Ridler, A.L., Kenyon, P.R., Morris, S.T., Pattison, R.S.:** A possible role for *Neospora caninum* in ovine abortion in New Zealand. *Small Rum. Res.* 62: 135-138, 2006.
- 235. Williams, D.J.L., McGarry, J., Guy, F., Barber, J., Trees, A.J.:** Novel ELISA for detection of *Neospora*-specific antibodies in cattle. *Vet. Rec.* 140: 328-331, 1997.
- 236. Woodbine, K.A., Medley, G.F., Moore, S.J., Ramirez-Villaescusa, A., Mason, S., Green, L.E.:** A four year longitudinal sero-epidemiology study of *Neospora caninum* in adult cattle from 114 cattle herds in South west England: Associations with age, herd and dam-offspring pairs. *BMC Vet. Res.* 4(35): 1-12, 2008.
- 237. Wouda, W.:** Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. *Vet. Quart.* 22 (2): 71-74, 2000.
- 238. Wouda, W., Bartels, C.J., Moen, A.R.:** Serodiagnosis of neosporosis in individual cows and dairy herds: a comparative study of three enzyme-linked immunosorbent assays. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 5: 711-716, 1998.
- 239. Wouda, W., Dijkstra, Th., Kramer, A.M.H., van Manen, C., Brinkhof, J.M.A.:** Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int. J. Parasitol.* 29: 1667-1682, 1999.
- 240. Wouda, W., Moen, A.R., Visser, I.J., van Knapen, F.:** Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart, and liver. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9(2):180-5, 1997.

241. **Wu, J.T., Dreger, S., Chow, E. Y., Bowlby, E.E.:** Validation of 2 commercial *Neospora caninum* antibody enzyme linked immunosorbent assays. Can. J. Vet. Res. 66:264-271, 2002.
242. **Yalınay Çırak, M.:** Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Sistemleri. T. Klin. Tıp Bilimleri. 19: 242-248, 1999.
243. **Yıldız, K., Duru, S.Y., Bugrahan B. Yağcı, B.B., Babür, C., Ocal, N., Safa Gürcan, S., Karaca, S.:** Seroprevalence of *Neospora caninum* and Coexistence with *Toxoplasma gondii* in Dogs. Türkiye Parazitol. Derg. 33(2): 116-119, 2009a.
244. **Yıldız, K., Kul, O., Babür, C., Kılıç, S., Gazyağcı, A.N., Çelebi, B., Gürcan, İ.S.:** Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle ranches with high abortion rate: Special emphasis to serologic co-existence with *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* and *Listeria monocytogenes*. Vet. Parasitol. 164: 306-310, 2009b.
245. **Yu, J., Xia, Z., Liu, Q., Liu, J., Ding, J., Zhang, W.:** Seroepidemiology of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the People's Republic of China. Vet. Parasitol. 2006.
246. **Zeyrek, F.Y., Erdoğan, D.D., Korkmaz, M.:** ELISA. 289-295. içinde: Özcel, MA., Tanyüksel, M., Eren, H. (Ed). Moleküler Parazitoloji. Türkiye Parazitol. Dern. Yay. No: 22, İzmir. 2009a.
247. **Zeyrek, F.Y., Erdoğan, D.D., Korkmaz, M.:** ELISA. 297-308. içinde: Özcel, MA., Tanyüksel, M., Eren, H. (Ed). Moleküler Parazitoloji. Türkiye Parazitol. Dern. Yay. No: 22, İzmir. 2009b.
248. **Zhai, Y.Q., Zhao, X.Q., Li, L., Wrang, C.R.:** Research advances in the diagnosis of cattle neosporosis. J. Anim. Vet. Adv. 6(12): 1377-1387, 2007.

## ÖZGEÇMİŞ

Öğr. Gör. Neriman MOR; 03.09.1976 yılında Kars ilinde doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Kars'ta tamamladı. 1993 yılında Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazanıp, 1997 yılında mezun oldu. 1998 yılında Milli Eğitim Müdürlüğü Kars Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okuluna öğretmen olarak atandı. 1998 yılı Ekim ayında Kafkas Üniversitesi Kars Meslek Yüksekokulunda Öğretim Görevlisi olarak göreve başladı. 2008 yılında Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'na kadro aktarımı yapıldı ve halen adı geçen kurumda görev yapmaktadır. Lisansüstü eğitimine 2001 yılı güz döneminde Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı'nda (Veteriner Fakültesi) başladı. "Kars yöresinde koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansı" adlı yüksek lisans tez çalışmasını yaparak, 13.07.2004'de yüksek lisans eğitimini tamamladı. 2004 yılı güz döneminde aynı Anabilim dalı'nda Doktora eğitimine başladı. Neriman MOR; 13 yaşında bir çocuk annesidir.

## EKLER

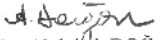
T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
ÇALIŞMAYA BAŞLAMA BELGESİ

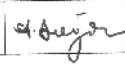
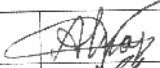

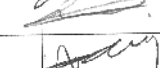
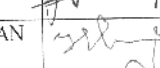
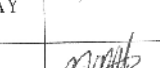
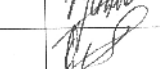
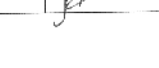

SAYI : 28

27.11.2008

Sayın; Doç.Dr.Atilla AKÇA  
Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Parazitoloji Anabilim Dalı

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 26.11.2008 tarih ve 06 sayılı oturumunda alınan karara göre "Kars Yöresinde Sığır ve Köpeklerde Neospora Caninum Üzerine Epidemiyolojik Araştırmalar:Gruplar Arası Çalışma" adlı araştırmanızda gerçekleştireceğiniz hayvan deneylerinin yönergemize uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

  
Prof. Dr. Abdullah DOĞAN  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul  
Başkanı

Hayvan Deneyleri ve Yerel Etik Kurul Başkanı	Prof.Dr.Abdullah DOĞAN	
Prof.Dr.Ali Rıza AKSOY		Prof.Dr.Vahit ALIŞOĞLU
Doç.Dr.Hakan KOCAMIŞ		Doç.Dr.Turgut KIRMIZIBAYRAK
Doç.Dr.Mete CİHAN		Doç.Dr.Murat GÜLMFZ
Yrd.Doç.Dr.Vedat BARAN		Yrd.Doç.Dr.Recep A.P
Yrd.Doç.Dr.Yusuf GÜNERHAN		Yrd.Doç.Dr.Süleyman GÜL
Yrd.Doç.Dr.Barlas SÜLÜ		Yrd.Doç.Dr.Özgür AKSOY
Yrd.Doç.Dr.Gülnaz KARATAY		Yrd.Doç.Dr.Ebru KARADAĞ SARI
Arş.Gör.Başak KURT		İrfan EKİNCİ
Özfer KOÇAK		Av.Timuçin TİMUR