

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PARAZİTOLOJİ (VETERİNER) PROGRAMI**

**BURDUR YÖRESİNDE RUMİNANLARDA *THEILERIA* VE  
*BABESIA* TÜRLERİNİN REVERSE LINE BLOT  
HİBRİDİZASYON TEKNİĞİ İLE ARAŞTIRILMASI**

**Doktora Tezi  
Onur KÖSE**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Hasan EREN**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından

VTF-15038 proje numarası ile desteklenmiştir

**AYDIN- 2017**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Parazitoloji (Veteriner) Doktora Programı çerçevesinde Onur KÖSE tarafından hazırlanan “Burdur yöresinde ruminantlarda *Theileria/Babesia* türlerinin reverse line blot hibridizasyon tekniği ile araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 15. 09. 2017

Üye

(Tez Danışmanı) : Prof. Dr. Hasan EREN

Adnan Menderes Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Tülin KARAGENÇ

Adnan Menderes Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Bayram Ali YUKARI

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM

Erciyes Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Serkan BAKIRCI

Adnan Menderes Üniversitesi



ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve numaralı Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve bunun son ve en önemli bölümlerinden biri olan tez çalışması sürecinde hep yanımda olarak yardımlarını esirgemeyen Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden başta danışman hocam Prof. Dr. Hasan EREN olmak üzere; Prof. Dr. Tülin KARAGENÇ, Doç. Dr. Serkan BAKIRCI, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Bilgin BİLGİÇ ve doktora öğrencisi Uzman Biyolog Ayça AKSULU'ya, özellikle laboratuvar deneyimi kazanmam konusunda çok fazla yardımını aldığım Yüzüncü Yıl Üniversitesi Gevaş Meslek Yüksek Okulu öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Ahmet Hakan ÜNLÜ'ye, tüm süreç boyunca desteğini hiç esirgemeyen Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden ve aynı zamanda yüksek lisans danışmanım Prof. Dr. Bayram Ali YUKARI'ya, lisansüstü eğitim-öğretim yaşamım boyunca her türlü konuda yanımda olan, akademik çalışma hayatının zorluklarına karşı motivasyonumu her daim yüksek tutmama yardımcı olan Doç. Dr. Ramazan ADANIR'a, tezin saha çalışmaları aşamasında sabırla destek veren yüksek lisans öğrencisi Veteriner Hekim Sinan YILDIZ'a ve tüm yaşamım boyunca yanımda olarak üzerimde en büyük emeğe sahip olan aileme sonsuz teşekkürlerimi, sevgi ve saygılarımı sunarım.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
RESİMLER DİZİNİ .....	xiii
TABLolar DİZİNİ .....	xiv
ÖZET .....	xv
ABSTRACT .....	xvii
ÖNSÖZ .....	xix
1.GİRİŞ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Tarihçe .....	3
2.1.1. Theileriosisin Tarihçesi .....	4
2.1.2. Babesiosisin Tarihçesi .....	5
2.2. <i>Theileria</i> ve <i>Babesia</i> Türlerinin Sınıflandırmadaki Yeri .....	7
2.3. Etiyoloji .....	9
2.3.1. Sığırlarda Parazitlenen <i>Theileria</i> Türleri .....	9
2.3.1.1. <i>Theileria annulata</i> .....	10
2.3.1.2. <i>Theileria parva</i> .....	13
2.3.1.3. <i>Theileria mutans</i> .....	14
2.3.1.4. <i>Theileria sergenti/buffeli/orientalis</i> grubu .....	15
2.3.1.5. <i>Theileria taurotragi</i> .....	17
2.3.1.6. <i>Theileria velifera</i> .....	18
2.3.1.7. <i>Theileria sinensis</i> .....	18
2.3.2. Sığırlarda Parazitlenen <i>Babesia</i> Türleri .....	19
2.3.2.1. <i>Babesia bigemina</i> .....	20
2.3.2.2. <i>Babesia bovis</i> .....	22
2.3.2.3. <i>Babesia divergens</i> .....	25
2.3.2.4. <i>Babesia major</i> .....	27
2.3.2.5. <i>Babesia ovata</i> .....	28

2.3.2.6. <i>Babesia occultans</i> .....	28
2.3.2.7. <i>Babesia jakimovi</i> .....	30
2.3.2.8. <i>Babesia beliceri</i> .....	30
2.3.3. Koyun ve Keçilerde Parazitlenen <i>Theileria</i> Türleri .....	31
2.3.3.1. <i>Theileria lestoquardi</i> .....	32
2.3.3.2. <i>Theileria ovis</i> .....	34
2.3.3.3. <i>Theileria luwenshuni</i> ve <i>Theileria uilenbergi</i> .....	35
2.3.3.4. <i>Theileria separata</i> .....	36
2.3.3.5. <i>Theileria recondita</i> .....	37
2.3.3.6. <i>Theileria</i> sp. MK .....	37
2.3.3.7. <i>Theileria</i> sp. OT1 ve <i>Theileria</i> sp. OT3 .....	38
2.3.4. Koyun ve Keçilerde Parazitlenen <i>Babesia</i> Türleri .....	39
2.3.4.1. <i>Babesia ovis</i> .....	39
2.3.4.2. <i>Babesia motasi</i> .....	41
2.3.4.3. <i>Babesia crassa</i> .....	43
2.3.4.4. <i>Babesia foliata</i> .....	43
2.3.4.5. <i>Babesia taylori</i> .....	44
2.3.4.6. <i>Babesia</i> sp. <i>Xinjiang</i> ve <i>Babesia</i> sp. <i>BQ1</i> .....	44
2.4. Yaşam Döngüsü .....	45
2.4.1. <i>Theileria</i> Türlerinin Yaşam Döngüsü .....	45
2.4.2. <i>Babesia</i> Türlerinin Yaşam Döngüsü .....	51
2.5. Patogenez ve Klinik Bulgular .....	56
2.5.1. Theileriosisde Patogenez ve Klinik Bulgular .....	56
2.5.2. Babesiosisde Patogenez ve Klinik Bulgular .....	60
2.6. Nekropsi Bulguları .....	63
2.6.1. Theileriosisde Nekropsi Bulguları .....	63
2.6.2. Babesiosisde Nekropsi Bulguları .....	64
2.7. Epidemiyoloji .....	65
2.7.1. Türkiye’de Sığır Theileriosisi .....	66
2.7.2. Türkiye’de Koyun ve Keçi Theileriosisi .....	71
2.7.3. Türkiye’de Sığır Babesiosisi .....	75
2.7.4. Türkiye’de Koyun ve Keçi Babesiosisi .....	83
2.7.5. İnsanlarda Babesiosis ve Türkiye’deki Yaygınlığı .....	87
2.7.6. Türkiye’de Vektör Kenelerin Yaygınlığı .....	89

2.8. Bağışıklık .....	98
2.8.1. Theileriosisde Bağışıklık .....	98
2.8.2. Babesiosisde Bağışıklık .....	103
2.9. Tanı .....	108
2.9.1. Theileriosisde Tanı .....	108
2.9.1.1.Theileriosisde Mikroskopik Tanı .....	109
2.9.1.2.Theileriosisde Serolojik Tanı .....	110
2.9.1.3.Theileriosisde Moleküler Tanı .....	112
2.9.2. Babesiosisde Tanı .....	116
2.9.2.1.Babesiosisde Mikroskopik Tanı .....	116
2.9.2.2.Babesiosisde Serolojik Tanı .....	118
2.9.2.3.Babesiosisde Moleküler Tanı .....	121
2.10. Tedavi .....	126
2.10.1. Theileriosisde Tedavi .....	126
2.10.2. Babesiosisde Tedavi .....	127
2.11. Korunma ve Kontrol .....	129
2.11.1. Theileriosisde Korunma ve Kontrol .....	129
2.11.2. Babesiosisde Korunma ve Kontrol .....	133
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	138
3.1.Çalışmada Kullanılan Kan Örneklerinin Toplandığı Bölgelerin Seçimi.....	138
3.2.Kan Örneklerinin Toplanması .....	139
3.3.Kan Örneklerinden gDNA İzolasyonu .....	140
3.4.Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction – PCR) .....	141
3.5.PCR Ürünlerinin Jel Elektroforez ile Moleküler Ağırlıklarına Göre Ayrılması ve UV Işık Altında Görüntülenmesi .....	143
3.6.Reverse Line Blot Hibridizasyon Yöntemi (RLB) .....	143
3.6.1. Türe Özgü Oligonükleotid Probların Biodin-C Membrana Bağlanması (Membranın Hazırlanması) .....	143
3.6.2. PCR Ürünlerinin Türe Özgü Problara Bağlanması .....	146
3.7.PCR ve RLB Yöntemlerinde Kullanılan Solüsyon ve Kimyasallar .....	148
3.8.PCR ve RLB İşlemlerinde Kullanılan Cihaz ve Sarf Malzemeler .....	150
3.9.İstatistiksel Analiz .....	151
4. BULGULAR .....	152
4.1.PCR Bulguları .....	152

4.2.RLB Bulguları .....	157
4.2.1. <i>Theileria</i> veya <i>Babesia</i> Türlerinden En Az Biriyle Enfekte (Pozitif) Bulunan Hayvan Sayı ve Yüzdeleri .....	157
4.2.2. Hayvan Türlerine Göre RLB ile Tespit Edilen <i>Theileria/Babesia</i> Enfeksiyonları .....	162
4.2.2.1.Koyunlarda RLB ile Tespit Edilen <i>Theileria/Babesia</i> Enfeksiyonları .....	162
4.2.2.2.Keçilerde RLB ile Tespit Edilen <i>Theileria/Babesia</i> Enfeksiyonları .....	166
4.2.2.3.Sığırlarda RLB ile Tespit Edilen <i>Theileria/Babesia</i> Enfeksiyonları .....	170
4.2.3. Hayvan Türlerine ve İlçelere Göre RLB ile Tespit Edilen Tekli ve Çoklu Enfeksiyonların Sayı ve Yüzdeleri .....	173
5. TARTIŞMA.....	175
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	193
KAYNAKLAR .....	195
ÖZGEÇMİŞ .....	249

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AMA-1</b>	: Apikal membran antijen-1
<b>BcG</b>	: <i>Babesia crassa</i> grubu ( <i>B. crassa</i> Türkiye/ <i>B. crassa</i> İran)
<b>Bcİ</b>	: <i>B. crassa</i> İran suşu
<b>BcT</b>	: <i>B. crassa</i> Türkiye suşu
<b>Bm3</b>	: <i>B. crassa/Babesia sp. Çin/B. motasi</i> grubu
<b>BoSA</b>	: <i>B. ovis</i> secreted antijen
<b>Bp</b>	: Baz çifti
<b>°C</b>	: Santigrat derece
<b>CAT</b>	: Kart Aglutinasyon Testi
<b>cELISA</b>	: Rekabetçi (competitive) ELISA
<b>CFT</b>	: Komplement Fiksasyon Testi
<b>Cyto-b1</b>	: Sitokrom b1
<b>dATP</b>	: Deoksiadenozin Trifosfat
<b>dCTP</b>	: Deoksisitidin Trifosfat
<b>dGTP</b>	: Deoksiguanozin Trifosfat
<b>dTTP</b>	: Deoksitimidin Trifosfat
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>dNTP</b>	: Deoksiribonükleosid-trifosfatlar
<b>ECF</b>	: East Coast Fever (Doğu Sahili Humması)
<b>ECL</b>	: Electrochemiluminescence
<b>EDAC</b>	: 1-ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl) carbodidide



<b>EDTA</b>	: Ethylenediaminetetraacetic acid (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> )
<b>EMA-1</b>	: Equi Merozoite Antigen 1
<b>EMA-2</b>	: Equi Merozoite Antigen 2
<b>ELISA</b>	: Enzim İşaretili İmmunosorbant Testi
<b>HCl</b>	: Hidroklorik asit
<b>HI</b>	: Hemaglunitasyon İnhibisyon
<b>ICS</b>	: İmmunokromatografik Strip
<b>IHA</b>	: İndirekt Hemaglutinasyon
<b>iNOS</b>	: İndüklebilir nitrik oksit sentaz
<b>ICT</b>	: İmmunokromatografi testi
<b>IFAT</b>	: İndirekt Floresan Antikor Testi
<b>IFN- α</b>	: İnterferon alfa
<b>IFN- γ</b>	: İnterferon gama
<b>IgG</b>	: İmmunglobulin-G
<b>IgM</b>	: İmmunglobulin-M
<b>IL</b>	: İnterleukin
<b>ITS</b>	: İnternal Transcript Spacer
<b>Kb</b>	: Kilobaz
<b>kDa</b>	: Kilo Dalton
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>LAMP</b>	: Loop Aracılı İzotermal Çoğaltma
<b>LAT</b>	: Lateks Aglutinasyon Testi
<b>LFD</b>	: Lateral Flow immunokromatografik test

<b>Mg</b>	: Miligram
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	: Magnezyum klorür
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>MHC sınıf I</b>	: Doku uyuşum kompleksi sınıf I
<b>MHC sınıf II</b>	: Doku uyuşum kompleksi sınıf II
<b>MPSP</b>	: Major piroplasm yüzey proteini
<b>MLAMP</b>	: Multipleks Loop Aracılı İzotermal Çoğaltma
<b>mPCR</b>	: Multipleks (çoklu) PCR
<b>mRNA</b>	: Mitokondrial RNA
<b>mSP</b>	: Major yüzey proteini
<b>mtDNA</b>	: Mitokondriyal DNA
<b>NaCl</b>	: Sodyum klorür
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	: Sodyum bikarbonat
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	: Sodyum fosfat
<b>NaOH</b>	: Sodyum Hidroksit
<b>NASBA</b>	: Nucleic Acid Sequence Based Amplification
<b>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	: Amonyum Sülfat
<b>nPCR</b>	: nested-PCR
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>NK</b>	: Doğal öldürücü hücreler (Naturel Killer)

<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>PAMP</b>	: Patojene İlgili Moleküler Motifler (Pathogen-Associated Molecular Patterns)
<b>PBM</b>	: Periferel Kan Mononükleer Hücreleri
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
<b>Pg</b>	: Pikogram
<b>Pmol</b>	: Pikomol
<b>pH</b>	: Hidrojenin gücü (Power of Hydrogen)
<b>POD</b>	: Peroksidaz
<b>qPCR</b>	: Kantitatif (Quantitative) PCR (Real-time PCR)
<b>RAP-1</b>	: Rhoptri ilişkili-protein-1
<b>RLB</b>	: Reverse line blot
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>rRNA</b>	: Ribozomal RNA
<b>RAPD</b>	: Rastgele çoğaltılan polimorfik DNA
<b>Real-time PCR:</b> Gerçek zamanlı PCR	
<b>RFLP</b>	: Restriction Fragment Length Polymorphism
<b>RNI</b>	: Reaktif nitrojen araçları
<b>RIA</b>	: Radyoimmunoassay
<b>ROI</b>	: Reaktif oksijen araçları
<b>RPM</b>	: Revolutions per Minute (1 dakikadaki dönüş/devir sayısı)
<b>RPS-8</b>	: Ribozomal protein S8
<b>SBPs</b>	: Yuvarlak vücut proteinleri
<b>SDS</b>	: Sodyum dodesil sülfat

<b>SSPE</b>	: NaCl Sodyum klorid + NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> Sodyum fosfat + EDTA
<b>SPAG-1</b>	: <i>Theileria annulata</i> sporozoit yüzey antijeni
<b>Spp</b>	: Türler (Species)
<b>SSCB</b>	: Sovyet Sosyalist Cumhuriyetler Birliği
<b>ssu rRNA</b>	: Ribozomal RNA küçük alt ünitesi (small subunit ribosomal RNA)
<b>Tamr-1</b>	: <i>Theileria annulata</i> merozoit rhoptri antijeni
<b>Tams-1</b>	: <i>Theileria annulata</i> merozoit / piroplasm yüzey antijeni
<b>TaSP</b>	: <i>Theileria annulata</i> yüzey proteini
<b>TaD</b>	: <i>Theileria annulata</i> şizont yüzey antijeni
<b>TAE</b>	: Tris-asetik asit-EDTA
<b>Ta-LFD</b>	: <i>T. annulata</i> lateral flow device
<b>TaSE</b>	: <i>Theileria annulata</i> şizont proteini
<b>TMA</b>	: Transkripsiyon aracılı çoğaltma
<b>TamtHSP70</b>	: <i>Theileria annulata</i> mitokondriyal ısı şok proteini
<b>Taq</b>	: <i>Thermus aquaticus</i>
<b>Th</b>	: Yardımcı T hücreleri
<b>TNF</b>	: Tümör Nekrozis Faktör
<b>TLR</b>	: Jeton benzeri (toll-like) reseptör
<b>TuIP</b>	: <i>T. uilenbergi</i> immunodominant protein
<b>U</b>	: Ünite
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>V4</b>	: Değişken (variable) 4

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> <i>Theileria</i> türlerinin genel yaşam döngüsü .....	46
<b>Şekil 2.</b> <i>Babesia</i> türlerinin genel yaşam döngüsü .....	54
<b>Şekil 3.</b> Kan örneklerinin toplandığı ilçeleri gösteren Burdur haritası .....	139
<b>Şekil 4.</b> RLB tekniğinde hibridizasyon prensibi; türe özgü oligonükleotidlerin C6 aminolinker ile membrana, biotinle işaretli PCR ürünlerinin türe özgü oligonükleotidlere, peroksidaz ile işaretli streptavidinin biotine bağlanması sonucunda ECL ilavesi ile oluşan ışımının elde edilmesi .....	146
<b>Şekil 5.</b> Biodin-C membrana, türe özgü oligonükleotidler ile PCR ürünlerinin uygulanma şekli ve hibridizasyon gerçekleştiğinde oluşan pozitif sinyaller.....	148
<b>Şekil 6.</b> İlçe ve hayvan türlerine göre PCR sonucu pozitif bulunan hayvan yüzdeleri .....	154
<b>Şekil 7.</b> İlçe ve hayvan türlerine göre RLB sonucu en az bir türle enfekte (pozitif) bulunan hayvan yüzdeleri .....	160
<b>Şekil 8.</b> Koyunlarda RLB sonucu saptanan enfeksiyonlar ve ilçelere göre dağılımı .....	165
<b>Şekil 9.</b> Keçilerde RLB sonucu saptanan enfeksiyonlar ve ilçelere göre dağılımı .....	169
<b>Şekil 10.</b> Sığırlarda RLB sonucu saptanan enfeksiyonlar ve ilçelere göre dağılımı .....	172

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> Giemsa ile boyalı kan frotisinde <i>T. annulata</i> 'nın piroplazmik formları (Orijinal) .....	11
<b>Resim 2.</b> Giemsa ile boyalı lenf frotisinde <i>T. annulata</i> 'nın şizont formu (Orijinal) ....	12
<b>Resim 3.</b> Giemsa ile boyalı kan frotisinde <i>B. bigemina</i> 'nın tek ve çift armut görünümündeki piroplazmik formları (Orijinal) .....	20
<b>Resim 4.</b> Giemsa ile boyalı kan frotisinde <i>B. bovis</i> 'in çift armut görünümündeki piroplazmik formları (Orijinal) .....	23
<b>Resim 5.</b> <i>B. bovis</i> merozoitlerinin beyin kapillar damarları içerisindeki görünümü (Shkap ve ark, 2007) .....	24
<b>Resim 6.</b> Giemsa ile boyalı kan frotisinde <i>B. divergens</i> 'in çift armut görünümündeki piroplazmik formları (Orijinal) .....	26
<b>Resim 7.</b> Giemsa ile boyalı kan frotisinde <i>B. ovis</i> 'in piroplazmik formları (Orijinal) ..	40
<b>Resim 8.</b> Giemsa ile boyalı kan frotisinde <i>B. motasi</i> 'nin piroplazmik formları (Orijinal)	42
<b>Resim 9.</b> PCR işleminde kullanılan Thermal Cycler'lar (PCR cihazları) .....	142
<b>Resim 10.</b> RLB yönteminde kullanılan Miniblotter.....	144
<b>Resim 11.</b> <i>Theileria/Babesia</i> genus PCR sonucu pozitif ve negatif bulunan bazı örneklerin yer aldığı örnek bir agaroz jel fotoğrafı .....	156
<b>Resim 12.</b> RLB'de kullanılan problemlerin yerleşimi .....	158
<b>Resim 13.</b> RLB'de kullanılan bazı pozitif kontroller.....	164
<b>Resim 14.</b> İncelenen bazı örneklere ait bir RLB membran fotoğrafı .....	168

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Toplanan kan örneklerinin ilçelere ve hayvan türlerine göre dağılımı.....	138
<b>Tablo 2.</b> <i>Theileria/Babesia</i> Genusu için Polimeraz Zincir Reaksiyonu Isı Döngüsü..	142
<b>Tablo 3.</b> RLB’de kullanılan proplar, nükleotid dizilimleri, özgüllükleri ve membranda kullanılan konsantrasyonları .....	145
<b>Tablo 4.</b> İlçe ve hayvan türlerine göre PCR sonucu pozitif bulunan hayvan sayı ve yüzdeleri	152
<b>Tablo 5.</b> İlçe ve hayvan türlerine göre RLB sonucu <i>Theileria</i> veya <i>Babesia</i> türlerinden en az biriyle enfekte (pozitif) hayvan sayıları ve yüzdeleri.....	159
<b>Tablo 6.</b> Koyunlarda RLB sonucu tespit edilen <i>Theileria/Babesia</i> enfeksiyonları .....	163
<b>Tablo 7.</b> Keçilerde RLB sonucu tespit edilen <i>Theileria/Babesia</i> enfeksiyonları .....	167
<b>Tablo 8.</b> Sığırlarda RLB sonucu tespit edilen <i>Theileria/Babesia</i> enfeksiyonları .....	171
<b>Tablo 9.</b> İlçelere ve hayvan türlerine göre tekli ve çoklu enfeksiyon sayı ve yüzdeleri.....	174

## ÖZET

# BURDUR YÖRESİNDE RUMİNANTLARDA *THEILERIA* VE *BABESIA* TÜRLERİNİN REVERSE LİNE BLOT HİBRİDİZASYON TEKNİĞİ İLE ARAŞTIRILMASI

**Köse O. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Veteriner) Programı Doktora Tezi, Aydın, 2017**

Bu çalışmanın amacı; hayvancılık faaliyetleri konusunda Türkiye'nin önde gelen illerinden biri olan Burdur ve yöresindeki sığır, koyun ve keçilerde, önemli hastalıklardan ve dolayısıyla ekonomik kayıplardan sorumlu olan *Theileria* ve *Babesia* türlerinin varlıklarının, yaygınlıklarının ve sığırlar ile koyun ve keçiler arasındaki olası çapraz enfeksiyon durumlarının reverse line blot hibridizasyon tekniği yardımıyla moleküler düzeyde araştırılmasıdır. Araştırma yöntemi olarak reverse line blot hibridizasyon yönteminin seçilme sebebi, bu yöntemin hızlı ve eş zamanlı olarak çok sayıda örneğin çok sayıda parazit türü yönünden incelenebilmesini mümkün kılmasıdır.

Bu amaçla öncelikle Burdur'a bağlı Ağlasun, Bucak, Gölhisar, Merkez ve Yeşilova ilçelerindeki çeşitli yerleşim merkezlerinden ortak veya komşu meralarda otlatılarak aynı kene türlerinin enfestasyonuna maruz kalabilme ihtimali bulunan sürüler seçilmiş ve 334 sığır, 330 koyun ve 300 keçi olmak üzere toplam 964 büyük ve küçükbaş hayvandan kan örnekleri toplanmıştır. İki bin onbeş yılının Eylül ve Ekim ayları boyunca toplanan kan örneklerinden DNA izolasyonunu takiben bütün DNA örneklerine *Theileria/Babesia* soylarına ait 18S ssu rRNA geninin V4 değişken bölgesi içinde 460-540 bp'lık parçayı amplifiye eden genel primerler RLB-F2 ve RLB-R2 (biotinle işaretli) kullanılarak PCR işlemi uygulanmıştır. Sonrasında PCR ürünleri RLB yöntemi yardımıyla *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenmiştir.

Çalışma sonucunda; 330 adet koyun kan örneğinin 153'ü (% 46,3) *T. ovis*, 106'sı (% 32,1) *T. ovis* + *Babesia* spp., ikisi (% 0,6) *Bm3* (*B. crassa/Babesia* sp. *China/B. motasi*) + *BcG* (*B. crassa* Türkiye/*B. crassa* İran), ikisi (% 0,6) *T. ovis* + *Bm3*, biri (% 0,3) *Babesia* spp., biri (% 0,3) *T. ovis* + *Bm3* + *BcG*, biri (% 0,3) *T. ovis* + *Bm3* + *BcI* (*B. crassa* İran) ve 64'ü (% 19,4) negatif olarak tespit edilmiştir. Tekli veya miks enfeksiyon olmasına bakılmaksızın *T. ovis*'in koyunlardaki yaygınlığı % 79,69 şeklinde bulunmuştur.



İncelenen 300 adet keçi kan örneğinin 33'ü (% 11) *Bm3*, 10'u (% 3,3) *Babesia* spp., üçü (% 1) *Theileria/Babesia* spp., ikisi (% 0,6) *B. ovis*, biri (% 0,3) *T. ovis* ve 206 tanesi (% 62,4) ise negatif bulunmuştur.

Taranan 334 sığır kan örneği içerisinde en yoğun karşılaşılan iki enfeksiyon *B. bovis* (% 3,3; 11/334) ve *Babesia* spp. (% 3,3; 11/334) enfeksiyonları olmuştur. Bunu bir sığırdaki (% 0,3) *T. annulata* ve yine bir başka sığırdaki (% 0,3) *T. annulata* + *Babesia* spp. enfeksiyonları izlemiş ve incelenen sığırların % 92,8 (310/334)'lik bir kısmı ise RLB analizleri sonucunda *Theileria* veya *Babesia* enfeksiyonları yönünden negatif bulunmuştur. Tekli veya miks enfeksiyon şeklinde olmasına bakılmaksızın *T. annulata*'nın yaygınlığı % 0,6 olarak tespit edilmiştir.

Tekli ve çoklu enfeksiyon tablosunda hayvan türlerinin toplam sayıları incelendiği zaman; beş ilçeden toplanan toplam 330 koyunun 154'ü (% 46,6) tek türle, 110'u (% 33,3) iki türle, ikisi (% 0,6) üç türle, 300 keçinin 49'u (% 16,3) tek türle, 334 sığırın 23'ü (% 6,9) tek türle ve biri (% 0,3) de iki türle enfekte olarak tespit edilirken keçilerde ikili ve üçlü, sığırlarda da üçlü enfeksiyona rastlanmamıştır.

Bu veriler incelendiği zaman ise; sığırlar ile koyun ve keçiler arasında *Theileria/Babesia* türleri yönünden her hangi bir çapraz enfeksiyon durumuna rastlanılmadığı görülmektedir.

Bu çalışma sonucunda sığır, koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin Burdur yöresindeki yaygınlıkları ile ilgili güncel veriler elde edilmiş; bu verilerin hem bölgedeki parazit faunasının anlaşılmasına, hem de gelecekte bu bölgede veya diğer bölgelerde yürütülmesi planlanan konuyla ilgili benzer çalışmalar için altyapı anlamında faydalı olacağı kanısına varılmıştır. Ayrıca bu veriler ışığında; sığır, koyun ve keçi yetiştiricileri ve veteriner hekimlerle görüşülerek durumun bildirilmesi ve hayvan hareketleri, mera yönetimi ve sistemli ve sürdürülebilir kene mücadelesi konularında gerekli önlemlerin alınması tavsiyelerinin verilmesi uygun görülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Theileria/Babesia*, ruminant, RLB, Burdur

## ABSTRACT

### RESEARCH OF *THEILERIA* AND *BABESIA* SPECIES IN RUMINANTIA OF BURDUR PROVINCE BY REVERSE LINE BLOT HYBRIDISATION TECHNIQUE

**Köse O. Adnan Menderes University Institute of Health Sciences  
Parasitology (Veterinary) Programme PhD Thesis, Aydın, 2017**

The aim of the present study is; to research the presence, prevalence and possible cross infections between cattle, sheep and goats for *Theileria* and *Babesia* species in Burdur province which is one of the most important cities of Turkey for animal production, by reverse line blot hybridisation technique. These parasites are responsible for important diseases and economic losses. In the present study, RLB is chosen as a research technique because it allows rapid, simultaneous detection and differentiation of different piroplasms infecting a given animal.

For this purpose; firstly the herds of cattle, sheep and goats was chosen which are grazing in the same or neighboring pasture, so they would probably be exposed to same tick species infestations from Ağlasun, Bucak, Gölhisar, Merkez and Yeşilova districts of Burdur. Then totally 964 blood samples collected from 334 cattle, 330 sheep and 300 goats from those herds in September and October of 2015 year. After isolation of DNA from those blood samples, RLB-F2 and RLB-R2 (biotin labelled) primers used for amplification of 460-540 bp hypervariable region 4 (V4 region) of the 18s small subunit ribosomal RNA gene of *Theileria/Babesia* spp. by PCR assay. Then all PCR products of those samples were investigated for *Theileria/Babesia* spp. by RLB assay.

As a result; 46,3 % (153/330) *T. ovis*, 32,1 % (106/330) *T. ovis* + *Babesia* spp., 0,6 % (2/330) *Bm3* (*B. crassa*/*B. sp. China*/*B. motasi*) + *BcG* (*B. crassa* Turkey/ *B. crassa* Iran), 0,6 % (2/330) *T. ovis* + *Bm3*, 0,3 % (1/330) *Babesia* spp., 0,3 % (1/330) *T. ovis* + *Bm3* + *BcG*, 0,3 % (1/330) *T. ovis* + *Bm3* + *BcI* (*B. crassa* Iran) infections found in sheeps samples and 64 of 330 (19,4 %) sheep samples were found negative. So, the prevalence of *T. ovis* in sheep was found to be 79,69 % regardless of single or mixed infection.

In goat samples; 11 % (33/300) *Bm3*, 3,3 % (10/300) *Babesia* spp., 1 % (3/300) *Theileria/Babesia* spp., 0,6 % (2/300) *B. ovis*, 0,3 % (1/300) *T. ovis* infections found and 62,4 % (206/300) of the samples seems to be negative.

In investigated cattle samples; 3,3 % (11/334) *B. bovis*, 3,3 % (11/334) *Babesia* spp., 0,3 % (1/334) *T. annulata*, 0,3 % (1/334) *T. annulata* + *Babesia* spp. infections found and 310 of 334 cattle samples (92,8 %) were observed as negative. The prevalence of *T. annulata* was found to be 0,6 % regardless of whether it was a single or mixed infection.

Sheep samples were found; 46,6 % (154/330) by single, 33,3 % (110/330) by two and 0,6 % (2/330) by three species infected. Goat samples were found; 16,3 % (49/300) by single species infected. And cattle samples were found; 6,9 % (23/334) by single and 0,3 % (1/334) by two species infected.

According to present data it seems that; no cross *Theileria/Babesia* infections found between cattle, sheep and goat samples.

As a result of present study; actual data obtained about presence and prevalence of *Theileria* and *Babesia* species in cattle, sheep and goats in Burdur province. It is believed that those data would be helpful to understand of parasite fauna in this province and would keep light for the similar future investigations in this or other provinces. Also it has been approved that; meeting and conversation with cattle, sheep and goat breeders and veterinaries about those parasites, their prevalence and to warn them about animal movements, pasture management and systematically fight against ticks is absolutely necessary for the future of animal production.

**Keywords:** *Theileria/Babesia*, ruminantia, RLB, Burdur

## ÖNSÖZ

Bilindiği üzere; çeşitli insan topluluklarının yerleşik yaşama geçmesiyle birlikte tarımsal üretim faaliyetleri, hayvan türlerini evcilleştirmeyi öğrenmeye başlamasıyla da hayvansal üretim faaliyetleri insanlık tarihinin vazgeçilmez unsurlarından olmuş ve zaman içerisinde teknolojinin de ilerlemesine paralel olarak günümüze dek gelişim göstermişler ve günümüzde de göstermeye devam etmektedirler. Her ne kadar sanayi ve bilişim devrimleri sonrası devletlerin yatırım politikalarını ağırlıklı olarak bu sektörlere kaydırmaya başladıkları gözlenirse de, üretim ekonomisi modelini temel alan her devletin vazgeçemeyeceği en önemli faaliyetler arasında günümüzde hala daha tarımsal ve hayvansal üretimin üst sıralarda yer aldığı yadsınamaz bir gerçek olarak karşımızda durmaktadır. Dünya'nın; ekonomi, teknoloji, sağlık, eğitim, sanat ve bilim gibi pek çok alanda ilk sıralarda yer aldığı kabul edilen ülkelerinin de üretim alanları ve rakamları incelendiği zaman tarım ve hayvancılığın ne kadar vazgeçilemez sektörler oldukları daha iyi anlaşılabilir. Ayrıca; ülke ekonomisine olan katkısının yanında, insanların hem fiziksel hem de zihinsel açıdan sağlıklı gelişim göstermeleri ve yaşamlarını sağlıklı, mutlu, çalışkan, üretken bir şekilde sürdürebilmeleri için ihtiyaç duydukları gıda maddeleri arasında hayvansal proteinler, başka her hangi bir kaynaktan elde edilemeyecek olan çok önemli beslenme unsurlarıdır. Dolayısıyla; bir ülkede hem ekonomiye olan katkısı, hem de önemli hayvansal protein kaynaklarından olan et ve süt başta olmak üzere diğer hayvansal ürünlere (yumurta, yapağı, kemik unu, kan unu vb.) olan ihtiyacın karşılanması amacıyla hayvan yetiştiriciliğinin uzun vadeli politikalar geliştirilerek sistemli ve bilimsel yöntemler ışığında yapılması hayati önem taşımaktadır.

Türkiye, yetiştiriciliği yapılan diğer hayvan türlerinde olduğu gibi büyük ve küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde de önemli üretim miktarlarına ulaşmış ülkelerden biridir. Türkiye İstatistik Kurumu'nun verilerine göre ülkemizde 2016 yılı itibarıyla 14 milyon sığır, 24 milyon koyun ve 10 milyon da keçi varlığı olduğu bilinmektedir (Web\_1). Sahip olunan hayvan varlığı kadar, yetiştiriciliğin düşük maliyetli yapılması, besin değeri yüksek, sağlıklı ve kaliteli gıda ürünlerinin elde edilmesi ve dolayısıyla hayvancılıktan üst düzeyde verim alınması hayvancılık faaliyetlerinin temel hedefi konumundadır.

Hayvancılık faaliyetlerinin önemli sorunlarından birini, etiyolojisinde parazitlerin rol oynadığı hastalıklar oluşturmaktadır. Bu hastalıklar içerisinde de theileriosis ve babesiosis; gerek verim düşüklükleri ve ölümler, gerekse tanı ve tedavi giderleri gibi, sebep oldukları ekonomik kayıplar nedeniyle önlemler alınması ve mücadele edilmesi gereken oldukça ciddi hastalıklardır. Theileriosis ve babesiosisin etiyolojisinde; keneler tarafından bir omurgalı

konaktan diğereine nakledilen ve zorunlu hücre içi kan protozoonları olan *Theileria* ve *Babesia* türleri rol oynamaktadırlar. Sığır, koyun ve keçilerde de türe özgü olarak pek çok *Theileria* ve *Babesia* türünün parazitlenerek hastalıklara sebep olduğu bilinmektedir. Bu hastalıklara karşı önlem almak ve mücadele etmek için öncelikle bu hayvanlarda parazitlenen ve hastalık etkenleri olan *Theileria* ve *Babesia* türleri ile bunlara vektörlük yapan kene türlerinin bölgesel olarak varlıklarının, yayılışlarının ve özgü oldukları konaklarının bilimsel yöntemlerden yararlanarak ortaya konması gerekmektedir.

Bu parazitlerin hayvan türüne özgü olarak parazitlendikleri bilinse de (Preston, 2001; Uilenberg, 2001; 2006), bazı çalışmaların sonuçları kendi konağı dışında farklı konaklarda da tespit edilmiş olan türlerden bahsetmektedirler (Criado-Fornelio ve ark, 2003a-b; Sivakumar ve ark, 2013; Elsify ve ark, 2014; Gholami ve ark, 2016). Bu çalışma ile de, Türkiye’de özellikle büyük ve küçükbaş hayvancılık faaliyetleri konusunda önemli bir yere sahip olan Burdur yöresinde sığır, koyun ve keçilerde parazitlenmekte olan *Theileria* ve *Babesia* türlerinin hem varlıklarının ve yaygınlıklarının hem de sığırlar ile koyun ve keçiler arasında olası çapraz enfeksiyon durumlarının, Reverse Line Blot Hibridizasyon tekniğinden yararlanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilecek verilerin; hem bu hastalık etkenleriyle mücadele etmek için ihtiyaç duyulan bölgesel yaygınlıklarının ve olası çapraz enfeksiyon durumlarının belirlenmesi, hem de bölgesel parazit faunasının anlaşılması konularına fayda sağlaması beklenmektedir. Ayrıca gelecekte gerek bu bölgede gerekse de başka bölgelerde *Theileria/Babesia* türleri veya diğere artropod kaynaklı kan protozoonlarını ve/veya moleküler araştırma tekniklerini konu edinecek olan çalışmalara alt yapı oluşturarak ışık tutacağı düşünülmektedir.

Bu tez çalışması Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (VTF-15038) desteklenmiştir.

# 1. GİRİŞ

Omurgasız eklembacaklılar olan artropodlar tarafından bir omurgalı konaktan diğerine nakledilen parazitlerin sebep oldukları hastalıklar içerisinde theileriosis ve babesiosis, Türkiye de dâhil olmak üzere dünyanın pek çok bölgesinde karşılaşılan ve uzun yıllardır mücadele edilen çok önemli protozoer hastalıklardır (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; İnci ve ark, 2013). Naklinde çoğunlukla Ixodidae (sert) ve daha az olarak da Argasidae (yumuşak) ailelerine bağlı çeşitli kene türlerinin biyolojik vektör olarak rol oynadıkları *Theileria* ve *Babesia* türleri zorunlu hücre içi protozoonlardır. Biyolojik sınıflandırma içerisinde Apikompleksa anacı ve Piroplasmida takımında yer alan *Theileria* ve *Babesia* türleri ve sebep oldukları hastalıklarla, vektör kene türlerinin yaygınlıklarıyla ilişkili olarak tropikal ve subtropikal iklim kuşağına sahip coğrafyalarda daha sık olarak karşılaşılmaktadır (Norval ve ark, 1992; Preston, 2001; Uilenberg, 2001; 2006).

Türkiye; 36°-42° kuzey enlemleri ile 26°-45° doğu boylamları arasında, Avrupa, Asya ve Afrika kıtalarının tam ortasında, 783.562 km<sup>2</sup>'lik bir alanda konumlanmakta, bu nedenle de ılıman iklim kuşağı içerisinde yer alarak paraziter etkenlerin yaşam ve çoğalmaları için oldukça uygun özelliklere sahip bulunmaktadır. Dolayısıyla hem *Theileria* ve *Babesia* türleri hem de vektör kene türleri için, Türkiye coğrafi ve iklim koşulları bakımından oldukça elverişli bir konumdadır.

Kırmızı et ve süt başta olmak üzere çeşitli hayvansal ürünlere olan ihtiyacın karşılanmasında önemli bir yeri olan sığır, koyun ve keçi üretim faaliyetlerinin de başlıca problemleri arasında theileriosis ve babesiosis önemli yer tutmaktadır. Günümüzde; sığırlarda parazitlendiği tespit edilen yedi *Theileria* ve sekiz *Babesia* türü bulunmaktadır (Nikolskii ve ark, 1977; Minami ve Ishihara, 1980; Gray ve De Vos, 1981; Soulsby, 1982; Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; Bai ve ark, 2002a; Bock ve ark, 2004; Altay ve ark, 2007a). Koyun ve keçilerde ise günümüze kadar dokuz *Theileria* ve yedi *Babesia* türü olduğu bilinmektedir (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Luo ve ark, 2002; Bai ve ark, 2002b; Bock ve ark, 2004; Uilenberg, 2006; Guan ve ark, 2009; 2010; Liu ve ark, 2012; Bilgiç ve ark, 2017a).

Bu türlerin hayvan türüne özgü olarak parazitlendikleri bilinse de (Preston, 2001; Uilenberg, 2001; 2006), bazı çalışmaların sonuçları kendi konağı dışında farklı konaklarda da tespit edilmiş olan türler olduğunu göstermiştir (Criado-Fornelio ve ark, 2003a-b; Sivakumar ve ark, 2013; Elsify ve ark, 2014; Gholami ve ark, 2016).

Dünya’da ve Türkiye’de *Theileria* ve *Babesia* türlerinin teşhis edilmesi ve yaygınlıklarının araştırılması amacıyla uzun yıllar boyunca mikroskopik teşhise dayalı tanı yöntemlerinden yararlanılmıştır. Günümüzde de bu hastalıklardan şüphelenilmesi durumunda ilk başvuru yöntemi; ucuz, hızlı ve pratik olması nedeniyle hala mikroskopik teşhis yöntemidir. Buna karşın; türlerin morfolojik olarak birbirlerinden ayırt edilmesindeki güçlük, latent ve kronik enfeksiyonlar gibi bazen kandaki parazitemi oranının oldukça düşük seviyelerde seyrettiği durumlarda mikroskopik bakı yönteminin güvenilirlik açısından yetersiz kaldığı gözlenmektedir (Böse ve ark, 1995; Gubbels ve ark, 1999; Almeria ve ark, 2001; Schnittger ve ark, 2003; 2004; Ndao, 2009; Mans ve ark, 2015). Bu nedenle, teknolojinin ilerlemesine paralel olarak zaman içerisinde hastalıkların tanısı amacıyla daha güvenilir yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla; parazitlere ait antijenler ile bu antijenlere karşı bağışıklık sistemi tarafından şekillendirilmiş olan antikorların saptanmasına yönelik serolojik tanı yöntemleri veya parazite ait genetik materyal olan nükleik asitlerin (DNA, RNA) tespitine yönelik moleküler tanı yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler subklinik veya latent enfeksiyonlar ile düşük parazitemi ile seyreden vakaların ve taşıyıcı hayvanların tespitinde mikroskopik tanıya kıyasla çok daha duyarlı sonuçlar vermektedirler (Böse ve ark, 1995; Gubbels ve ark, 1999; Almeria ve ark, 2001; Schnittger ve ark, 2003; 2004; Mosqueda ve ark, 2012; Rajendran ve Ray, 2014; Eshetu, 2015; Lu ve ark, 2015; Mans ve ark, 2015).

Bu çalışma ile; eş zamanlı olarak çok sayıda şüpheli örneğin, çok sayıda parazit türü yönünden incelenebilmesini mümkün kılan RLB yönteminden (Gubbels ve ark, 1999; Schnittger ve ark, 2004) yararlanılarak, Türkiye’nin önemli hayvancılık merkezlerinden biri olan Burdur yöresi sığır, koyun ve keçilerinde *Theileria* ve *Babesia* türlerinin varlıkları, yayılışları ve hayvan türleri arasındaki olası çapraz enfeksiyon durumları araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tarihçe

Bilinen yazılı kaynaklar ışığında *Theileria* ve *Babesia* cinslerinin tarihçelerinden bahsetmeden önce, Piroplasmida takımında yer alan bu parazitlerle ilgili tarih öncesi devirlerden kalma bir fosil bulunduğunu bildiren ve bu çalışmanın kaleme alındığı sıralarda yayınlanan çok güncel ve ilginç bir makaleden söz etmekte fayda görülmüştür. Karayiplerdeki Hispanolya Adası üzerinde yer alan Dominik Cumhuriyeti'ndeki bir madende bulunan kehribar örneği içerisinde doymuş bir *Amblyomma* nimfine ait fosile rastlanmış ve bu kenenin üzerinin de kanla kaplı olduğu görülmüştür. Kenenin dorsal yüzeyinde görülen iki adet delik yüzünden, kenenin konağından güç kullanılarak koparıldığı ve üzerindeki kanın da bu deliklerden sızdığı düşünülmüştür. Fosilleşmiş bir ağaç reçinesi olan kehribar içerisine gömülü halde bulunan kenenin ve üzerindeki kan tabakasının da, reçinenin koruyucu etkisi sayesinde fosilleştiği ve bu kadar uzun süre bozulmadan kalabildiği anlaşılmıştır. Zira yapılan tarihlendirme çalışmaları bu fosilin en az 15 milyon yıl (15-45) öncesinden kalma olabileceğini göstermiştir. Yapılan incelemede, doymuş kenenin bağırsaklarında ve vücut boşluklarında da üzerindeki gibi fosilleşerek korunmuş kana rastlanmış ve mikroskopik inceleme sonucu kırmızı kan hücrelerinin de fosilleştiği anlaşılmıştır. Morfolojik incelemeler ve bölgede yaşayan memeli türlerinin tarihsel ekolojisi gibi bilgiler, eritrositlerin o dönem o bölgede yaşamış olduğu düşünülen bir primat türüne ait olabileceğini düşündürmüştür. Primatlarda görülen birbirini temizleme (tımarlama) alışkanlığı da kenenin dorsalindeki tahribatın ve reçine içerisine gömülmesinin muhtemel açıklaması gibi görülmektedir. Daha da ilginç olan ve bu makaleden burada bahsedilmesine sebep olan bulgu ise, kırmızı kan hücreleri içerisinde fosilleşmiş halde görülen piroplazmik formlara ait çeşitli gelişim aşamalarıdır. Bu piroplazmik etkenler; küçük-orta boy küre (1,3-2,3 µm çapında), büyük boy küre (4-4,3 µm çapında), çomak (2-3,4 µm uzunluğunda), armut (piriform) (2-3 µm uzunluğunda) ve mühür yüzüğü şeklinde oval (signet ringed) (2,5-4,7 µm çapında) formlar olarak tanımlanmışlardır. Ayrıca bazı eritrositler içerisinde soluk halde Malta haçı (Maltese Cross) formları da görülmüştür. Bu gelişim formlarından bazılarında eritrositlerin yanı sıra, kenenin bağırsak boşluğunda, epitelyum hücreleri içerisinde, hemoselde ve hemositlerde de rastlanmıştır. Elde edilen bu bulgular, bilinen morfolojik ve biyolojik özellikler göz önünde bulundurularak değerlendirilmiş ve Piroplasmida takımındaki *Theileria* ve *Babesia* türlerinin



ataları olabileceği düşünölen bu parazitler ‘*Paleohaimatus calabresi* gen. et sp. n.’ (Yunanca; palaios=antik + haimatos=kan) olarak isimlendirilmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen bulgular sayesinde ilk kez, fosilleşmiş haldeki memeli eritrositleri ve bunlar içerisindeki kan parazitleri tanımlanmış ve piroplazmlar ile keneler arasındaki ilişkinin bu kadar eski dönemlere dayandığı ortaya konmuştur. Bu bulguların, Piroplasmida takımının tarihsel evrimi ve filogenetiği açısından önem taşımakta olduğu düşünölmektedir (Poinar, 2017).

### 2.1.1. Theileriosisin Tarihçesi

Hastalığın etiyojisiyle ilgili modern devirdeki ilk bulgular 17. yüzyılın sonlarına rastlamaktadır. Alman mikrobiyolog Robert Koch Tanzanya’nın Darusselam bölgesinde asistanı Giemsa ile birlikte ‘Redwater’ hastalığı üzerine yürüttükleri bir çalışma sırasında sığır eritrositleri içerisinde karşılaştığı etkenler sayesinde *Theileria* ile karşılaştığı muhtemelen ilk araştırmacılar olmuşlardır. Bin sekiz yüz doksan yedi yılındaki bu çalışma sırasında Koch sığır eritrositleri içerisinde büyük ve küçük *Babesia* etkenlerinin yanı sıra bu vakanın muhtemelen ikili bir enfeksiyon olmasından dolayı, *Babesia* türlerinden daha küçük yuvarlak, oval, çomak benzeri morfolojiye sahip etkenlerle de karşılaşmıştır. İlk etapta bunların *Babesia bigemina*’nın genç formları olabileceğini düşünmüştür. Sonrasında 1901 yılında Güney Afrika’da ilk kez Doğu Sahili Ateşi (East Coast Fever - ECF) salgını üzerine çalışma fırsatı bulmuştur. Stephens ve Christopher’ın 1903 yılında *Piroplasma kochi* olarak isimlendirdiği, lenf hücreleri içerisindeki aşama halinde olan şizontlar, uzun zaman bu isimle bilinecek olan Koch’un mavi cisimcikleri olarak tanımlamıştır. Etkenin naklinde önce *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus*’un rol oynadığını düşündüyse de bunda yanılmıştır. Sonra Lounsbury 1904 yılında bu yeni etkenin *Rhipicephalus appendiculatus* tarafından transstadial olarak nakil olduğunu ortaya koymuştur. Theiler 1904’de bu etkeni *Piroplasma parvum* olarak isimlendirmiş ve Theiler ile Stockman 1908’de vektör olarak *Rhipicephalus appendiculatus*’u teyit etmişlerdir. Bu isim 1907 yılında Bettencourt, França ve Borges tarafından *Theileria parva* olarak değiştirilmiştir. Lenfositler içerisindeki bu etkenlerin *T. parva*’nın şizontları olduğu Gonder tarafından 1911 yıllarında teyit edilmiştir (Neitz, 1957; Norval ve ark, 1992).

Yine 1904 senesinde Dschunkowsky ve Luhs Kafkasya’da sığır eritrositleri içerisinde tespit ettikleri etkenleri *Piroplasma annulatum* olarak isimlendirmişlerdir. Bettencourt, França

ve Borges tarafından 1907 yılında *Theileria* cins adının teklif edilmesi ile benzer şekilde bu türün de *Theileria annulata* olarak isimlendirilmesi kabul edilmiştir (Norval ve ark, 1992).

Kuzey Afrika'da 1924 yılında Sergent ve arkadaşları tarafından tespit edilen etken *Theileria dispar* olarak isimlendirilmiş, buna yakın tarihlerde Türkistan'da da başka bir tür olduğu düşünülen parazite *Theileria turkestanica* adı verilmiştir. Aynı parazitler olduğu anlaşılan bu etkenlerin 1949'da Dschunkowsky ve Delpy'nin önerisiyle farklı isimlerle ifade edilmesi yerine tek bir isim altında *Theileria annulata* olarak isimlendirilmesinde görüş birliğine varılmıştır (Levine, 1985; Mimioglu, 1985). Bundan sonra pek çok çalışma sonucunda çeşitli türler tespit edilmiş fakat bunların çoğunlukla birbirlerinin sinonimleri olduğu düşünülmüştür. Yapılan bu çalışmalar sayesinde bu parazitlerin ne kadar geniş ve farklı coğrafyalarda yayılım gösterdiği de anlaşılmıştır (Levine, 1985; Norval ve ark, 1992).

Türkiye'de *T. annulata*'nın tespiti ilk kez 1930 yılında Samuel ve Raif tarafından yapılmıştır. Ertesi yıl Lestoquard ve Ekrem Erbin ikinci kez *T. annulata* bildiriminde bulunmuşlardır (Mimioglu ve ark, 1969). İlerleyen yıllarda ülkenin çeşitli bölgelerinde yürütülen çalışmalar sayesinde *T. annulata*'nın yaygınlığı çeşitli tanı yöntemleri kullanılarak ortaya konmaya başlanmıştır (Mimioglu, 1955; Özcan, 1961; Göksu, 1970; Dinçer ve ark, 1991; Altay ve ark, 2005; 2007a).

### 2.1.2. Babesiosisin Tarihçesi

Bilindiği kadarıyla babesiosis ile ilgili ulaşılabilen en eski yazılı kaynak, kutsal kitap olarak kabul edilen Exodus'tur. Bu kitabın 9:3 bölümünde sığır, deve, koyun ve diğer memeli hayvanları etkileyen bir salgın hastalıktan bahsedilmekte ve bunun babesiosis olabileceği yorumu yapılmaktadır (Pruthi ve ark, 1995; Gelfand, 2000). Bundan yüzyıllar sonra karşılaşılan, bilimsel anlamdaki ilk bulgu ise 1888 yılına aittir. Romanya'da 30.000 ile 50.000 arasındaki sığırın ölümünden sorumlu tutulan endemik bir hastalığın etiyojisini araştırmak amacıyla yapılan çalışma sırasında araştırma ekibinin başındaki mikrobiyolog Victor Babes klinik olarak yüksek ateş ve hemoglobinuri görülen bir sığırın eritrositleri içerisinde karşılaştığı mikroorganizmaları bakterilere benzeterek *Haematococcus bovis* olarak adlandırmıştır. Enfeksiyona da 'Enzootik Hemoglobinuri' ismini vermiştir (Babes, 1888; Mahoney, 1977). Daha sonra araştırma ekibinin üyelerinden biri olan Starcovici etkeni *Babesia bovis* olarak adlandırmıştır (Kuttler ve ark, 1988). Aynı yıl Theobald Smith ve Fred Kilborne Amerika Birleşik Devletleri'nin güney bölgelerinde 'Teksas Ateşi' ismiyle bilinen

hastalığın etkenini eritrositler içerisinde tespit etmiş ve yuvarlak ve armut şekilli bu etkene önce *Piroplasma bigeminum* ismini vermişlerdir. Daha sonra bu isim *Babesia bigemina* olarak değiştirilmiştir. Aynı çalışma sırasında bu araştırmacılar sığır kenese olan *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*'un *Babesia bigemina*'nın bir sığırdan diğer bir sığıra naklinde rol oynadığını tespit etmişlerdir. Böylece bir arthropodun bir patojen ajana vektörlük yapabileceği de ilk kez gösterilmiş ve ispatlanmıştır (Smith ve Kilborne, 1893). Smith ve Kilborne'un bu gözlemleri Cooper Curtice'in kene mücadelesi ile hastalık etkenlerinin de ortadan kaldırılabileceğine dair hipotezi ile daha da güçlenmiştir. Bundan yola çıkarak kene eradikasyon programı hazırlamışlardır (Graham ve Hourigan, 1977).

İlerleyen yıllarda Arjantin'de Lignieres isimli araştırmacı birbirinden farklı boyutlarda iki *Babesia* etkeni görmüş, bunlardan birine *Piroplasma bigemina*, diğerine *Piroplasma argentina* demiştir. Bin dokuz yüz üç yılındaki bu keşifte böbrek ve beyin kapillar damarlarından hazırlanan kan frotilerinde gördüğü küçük olan etkene *Piroplasma argentina* adını vermiş, bu isim daha sonra *Babesia argentina*, en son olarak da 1970'li yıllarda *Babesia bovis* olarak değiştirilmiştir (Kuttler ve ark, 1988).

Sığır eritrositleri içerisine yerleşen değişik morfolojilerde *Babesia* etkenlerinin tespiti ilerleyen yıllarda da devam etmiştir. Örneğin İngiltere'de John McFadyean ve Steward Stockman adlı iki araştırmacı 1911 senesinde sığır eritrositleri içerisinde geniş açılı bir şekilde ve eritrositlerin çevresine yerleşim gösteren *Babesia* etkenleri tanımlamış ve bunları önce *Piroplasma divergens* olarak adlandırmışlar, daha sonra bu isim *Babesia divergens* şeklinde değiştirilmiştir (Mahoney, 1977; Tüzer, 1980).

Serolojik araştırma tekniklerinin geliştirilmesiyle birlikte paraziter enfeksiyonların ve dolayısıyla etkenlerin tanısında da kullanılmaya başlanmış ve *Babesia* türleri arasındaki antijenik farklılıklar ortaya konmaya başlamıştır. (Leeflang ve Perie, 1972).

Dünyanın farklı bölgelerinde benzer etkenlerin keşfinden sonra; sığır *Babesia*'ları 1960'lı yılların sonlarında Hoyte tarafından incelenmiş, *B. bovis* (= *B. argentina*; *B. berbara*; *B. colchica*), *B. bigemina*, *B. divergens* (= *B. caucasica*; *B. occidentalis*; *B. karelica*) ve *B. major*'un babesiosis etkeni olan başlıca türler olduğu kabul edilmiştir (Brocklesby, 1976; Angus, 1996).

İlk tanımlandığı günden bugüne kadar *Babesia* etkenleri için çeşitli bölgelerde çeşitli isimler kullanılmıştır. Bunlar; *Piroplasma*, *Achromaticus*, *Nicolli*, *Nuttallia*, *Smithia*, *Rossiella*, *Rangelia*, *Entopolypoides*, *Gonderia*, *Microbabesia*, *Babesiella*, *Francaiella*, *Luhisia*, *Sogdianmella* ve *Pattonella* olarak karşımıza çıkmaktadır (Levine, 1985). Bunların büyük çoğunluğu artık kullanılmamakta ve *Babesia* cins ismi tüm Dünya'da kabul görmekte

birlikte *Piroplasma* ismi de yer yer kullanılabilir. *Piroplasma* ismi esasen *Babesia* türlerinin eritrositler içerisindeki formlarının morfolojik olarak armut benzeri (pear-shaped) şeklinde tanımlanmalarından kaynaklanmaktadır (Uilenberg, 2006).

Türkiye'deki babesiosis tarihçesine baktığımız zaman; *Babesia*'nın ilk kez İstanbul'da tespit edildiği anlaşılmaktadır. Doktor Maurice Nicole ve Veteriner Mikrobiyolog Mustafa Adil Bey 1890 yılında sığır eritrositleri içerisinde babesiosis etkenine rastlamışlar ancak etkenin tanımlanması 30 yıl kadar sonra yapılabilmektedir (Gören ve Yetkin, 1935; Mimioğlu ve ark, 1969). Daha sonra Samuel ve Raif (1930), Lestoquard ve İbrahim Ekrem (1931), Gören ve Yetkin (1935) ve Aysoy (1941) konuyla ilgili çalışmalar yapmışlardır. Devamında ise; 1950-1980 arasında mikroskopik, 1980'lerin sonunda serolojik ve 2000'li yılların başlarında ise yukarıdaki tanı yöntemlerine ek olarak nükleik asit tabanlı moleküler çalışmalar yürütülmüştür (İnci ve ark, 2007; 2013).

## **2.2. *Theileria* ve *Babesia* Türlerinin Sınıflandırmadaki Yeri**

Pek çok parazitin sınıflandırılmasında olduğu gibi *Theileria* ve *Babesia* türlerinin sınıflandırmadaki yerinin belirlenmesi de geleneksel olarak; morfoloji, yaşam döngüsü, vektörler, coğrafi yayılış, omurgalı konak gibi bazı biyolojik özellikler ve faktörler dikkate alınarak yapılmaya çalışılmıştır (Levine ve ark, 1980; Irvin, 1987; Mehlhorn ve ark, 1987; Levine, 1988; Cavalier-Smith, 1993).

Bunun yanında son yıllarda teknolojinin ilerlemesi ile birlikte moleküler filogenetik analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Piroplasmida ailesi ve Apikompleksa anacında yer alan diğer türlerin filogenetik akrabalık ilişkileri, small subunit ribozomal RNA (SS rRNA) gen dizilerinin karşılaştırılması sayesinde daha sağlıklı bir şekilde ortaya konmaya başlamıştır (Gajadhar ve ark, 1991; Ellis ve ark, 1992; Allsopp ve ark, 1993; Chansiri ve ark, 1999).

Bazı klasik kaynaklara göre *Theileria* ve *Babesia* cinslerinin sınıflandırmadaki yeri aşağıdaki gibidir (Uilenberg, 1981; Kreier ve Baker, 1987; Levine, 1988).

Alem: Protista Haeckel, 1866

Alt alem: Protozoa (Goldfuss, 1818) R. Owen, 1858

Şube: Apicomplexa Levine, 1970

Sınıf: Sporozoea Leuckart, 1879

Altsınıf: Piroplasmia Levine, 1961

Takım: Piroplasmida Wenyon, 1926

Aile: Babesiidae Poche, 1913

Cins: *Babesia* Starcovici, 1893

Aile: Theileriidae du Toit, 1918

Cins: *Theileria* Bettencourt, França *et* Borges, 1907

Sınıflandırma çalışmalarındaki son gelişmeler göz önüne alındığında *Theileria* ve *Babesia* cinslerinin Systema Natura'ya göre en son sınıflandırması ise aşağıdaki şekilde karşımıza çıkmaktadır (Web\_2, Web\_3).

Üst alem: *Corcicata* Lankester, 1878

Alem: *Chromista* Cavalier-Smith, 1981

Alt alem: *Harosa* Cavalier-Smith, 2000

Aşağı alem: Halvaria Cavalier-Smith, 2010

Üst Şube: Alveolata Cavalier-Smith, 1991

Şube: Miozoa Cavalier-Smith, 1987

Alt şube: Myzozoa Cavalier-Smith ve Chao, 2004

Aşağı şube: Apicomplexa Levine, 1970

Üst sınıf: Sporozoea Leuckart, 1879

Sınıf: Coccidiomorpha Doflein, 1901

Alt sınıf: Hematozoa Vivier, 1982

Üst takım: Aconoidia Cavalier-Smith, 2014

Takım: Piropilasmida Wenyon, 1926

Aile: Babesiidae Poche, 1913

Cins: *Babesia* Starcovici, 1893

Aile: Theileriidae du Toit, 1918

Cins: *Theileria* Bettencourt, França *et* Borges, 1907

## 2.3. Etiyoloji

### 2.3.1. Sığırlarda Parazitlenen *Theileria* Türleri

Önemli sığır hastalıklarından biri olan theileriosisden sorumlu *Theileria* türleri ilk kez tanımlandıklarından günümüze kadar Dünya'nın farklı bölgelerinde bu protoozoonlarla ilgili pek çok araştırma yapılmış ve son bilgiler ışığında sığırlarda parazitlenen yedi farklı *Theileria* türü olduğu tespit edilmiştir. Bu türler; *T. annulata*, *T. parva*, *T. mutans*, *T. sergenti/buffeli/orientalis*, *T. taurotragi*, *T. velifera* ve *T. sinensis* şeklinde karşımıza çıkmaktadır (Levine, 1985; Chansiri ve ark, 1999; Bai ve ark, 2002a; Altay ve Aktaş, 2004; Altay ve ark, 2007a). Tanımlanmış olan bu *Theileria* türleri arasında morfoloji (boyut, form vb.), yaşam döngüsü, patojenite, genetik yapı gibi çeşitli özellikler bakımından farklılıklar bulunmaktadır. Her ne kadar morfolojileri farklılıklar gösterse de heterojen bir yapı göstermeleri nedeniyle, Giemsa ile boyanmış sürme kan frotilerinde morfolojik olarak ayırt edilmeleri kolay olmamaktadır. İçlerinde patojenite bakımından öne çıkan iki önemli tür *T. parva* ve *T. annulata*'dır. Bu iki tür sığırlarda bulaşma ve ölüm oranı yüksek olan ve lenfoproliferatif karakteristiğe sahip hastalıklara sebep olabilmekte iken diğer türlerin apatojen veya göreceli olarak daha az patojeniteye sahip oldukları ve daha hafif seyirli enfeksiyonlar oluşturdukları düşünülmektedir (Levine, 1985; Altay ve Aktaş, 2004).

İyi huylu theileriosis etkenlerinden *T. mutans*, *T. velifera* ve *T. taurotragi* ağırlıklı olarak Afrika'da yerleşim gösterirken, *T. sergenti/buffeli/orientalis* grubuna dâhil parazitler ise tüm dünyada yaygın olarak görülmektedirler (Uilenberg, 1981). *T. sinensis* ise Çin'de görülmektedir (Bai ve ark, 2002a).

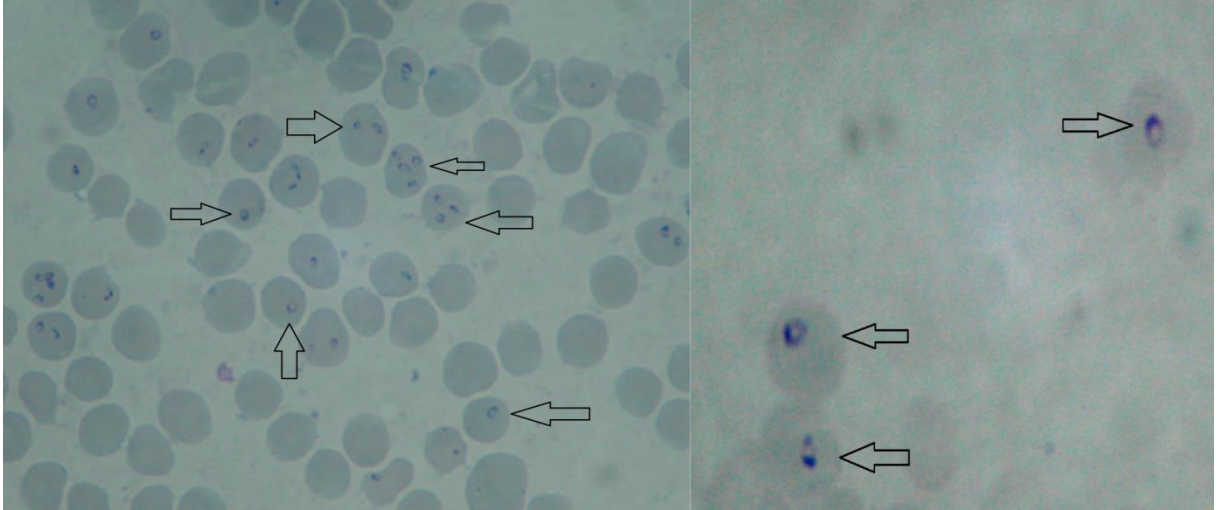
Türkiye'de yapılan araştırmalar sonucunda sığırlarda; tropikal theileriosis hastalığının etkeni olan ve yüksek patojeniteye sahip *T. annulata* ile daha az patojen olan *T. buffeli/orientalis* türlerinin bulunduğu tespit edilmiştir (Altay ve ark, 2007a; Bilgin, 2007; Peker, 2014).

### 2.3.1.1. *Theileria annulata* (Dschunkowsky ve Luhs, 1904) Wenyon, 1926

Geçmişten günümüze çeşitli sinonim isimlerle anılmıştır. Bunlardan bazıları; *Piroplasma annulatum*, *Theileria dispar*, *T. turkestanica*, *T. sergenti*, *Gonderia annulata* ve *G. dispar*'dir. Yine aynı şekilde sorumlu olduğu hastalık da bölgelere göre tropikal theileriosis, tropikal piroplasmosis, Mısır ateşi, Akdeniz sahil ateşi gibi çeşitli isimlerle anılmaktadır (Levine, 1985).

Coğrafi olarak Güney Avrupa (İspanya, Portekiz, İtalya ve Yunanistan'ın güney bölgeleri), Kuzey Afrika (batıda Fas'tan başlayarak doğuda Mısır'a ve Afrika Sahra bölgesinin alt kesimlerindeki Sudan'a kadar), Orta Doğu, Rusya Federasyonu (Transkafkasya bölgesi, Orta Asya Cumhuriyetleri), Uzak Doğu ve Çin'e kadar geniş bir bölgede yayılım göstermektedir (Preston, 2001; Bilgiç, 2010).

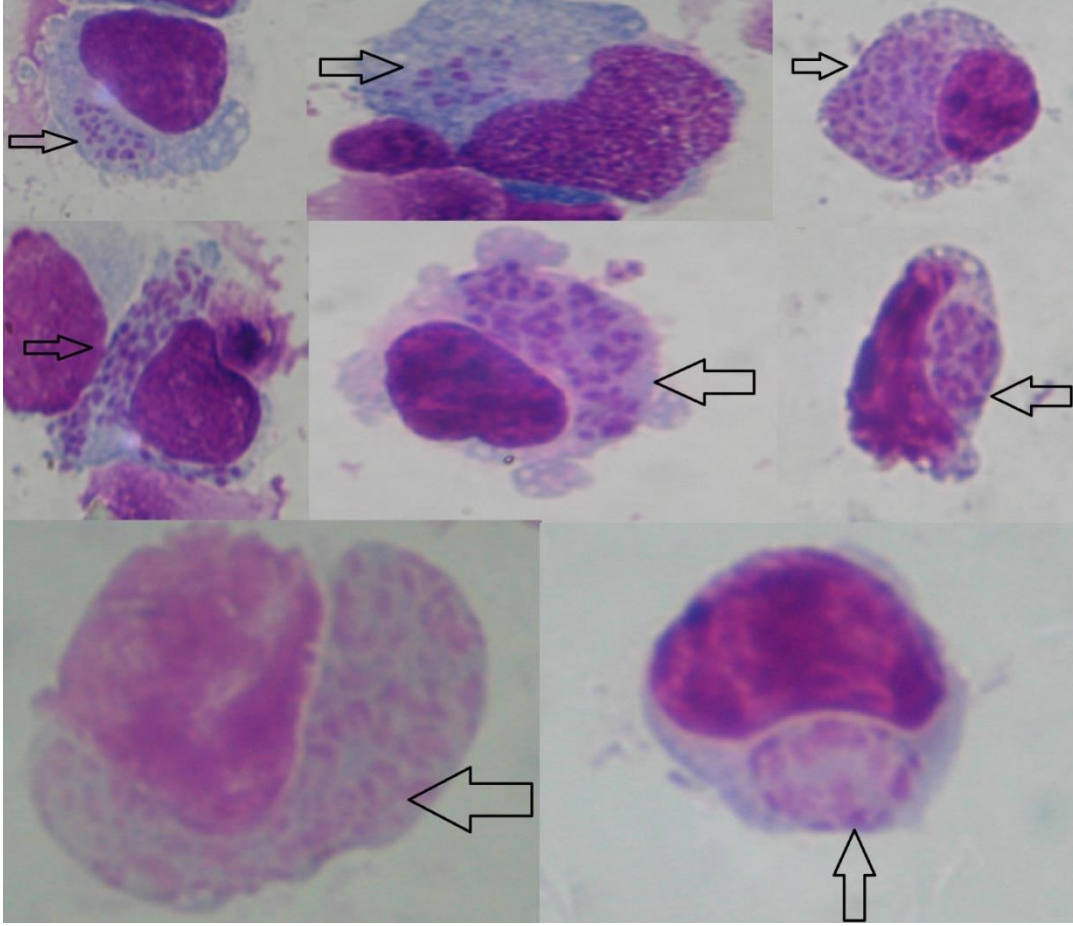
Her ne kadar *T. annulata* endemik olduğu bölgelerde virülans ve moleküler çeşitlilik bakımından geniş bir suş varyasyonu ihtiva etse de Kuzey Afrika'dan Çin'e kadar yayılış gösterdiği geniş coğrafyada benzer hastalık belirtileri göstermektedir. (Preston, 2001). *T. annulata* enfeksiyonlarında karşılaşılan ekonomik kayıplar; verim düşüklüğü, teşhis ve tedavi giderleri, hastalıktan korunmak için uygulanan aşı masrafları, kontrol amaçlı yapılan kene mücadelesi giderleri, veteriner hekim ücretleri ve ölüm nedeniyle hayvan kaybı şeklinde sıralanabilmektedir (Bilgiç, 2010). Tropikal theileriosisin bu kadar geniş bir coğrafyada görülmesindeki en önemli etkenlerden biri, bu bölgelerdeki yaşam koşullarının *T. annulata*'ya vektörlük yapan *Hyalomma* cinsine bağlı keneler için son derece elverişli olmasıdır (Purnell, 1978). Sığır, manda, zebu ve bizonlarda hastalık etkeni olan *T. annulata*'nın naklinde *Hyalomma* cinsine bağlı iki veya üç konaklı gelişim gösteren pek çok tür vektör olarak rol almaktadır. *Hyalomma scupense (detritum)* (= *H. mauretanicum*), *H. excavatum*, *H. truncatum*, *H. dromedarii*, *H. turanicum* (= *H. rufipes glabrum*), *H. marginatum* (= *H. savignyi*, *H. aegyptium*) ve *H. longicornis* (= *H. bispinosa*, *H. neumanni*), *T. annulata*'ya transstadial olarak vektörlük yapan *Hyalomma* türlerine ait bazı örneklerdir. *Theileria annulata*'ya vektörlük yapan on beş kadar *Hyalomma* türü olduğu bildirilmiştir. (Robinson, 1982; Levine, 1985; Taylor ve ark, 2007; 2016).



**Resim 1.** Giemsa ile boyalı kan frotisinde *T. annulata*'nın piroplazmik formları (Orijinal)

Eritrositer (piroplazmik) formları morfolojik olarak çoğunlukla yuvarlak veya oval şekilli olmaktadır. Yuvarlak ve oval formlar ortalama % 80'lik bir orana sahiptirler. Yuvarlak formlar ortalama 0,5–2,7  $\mu\text{m}$  ve oval formlar da ortalama  $2 \times 0,6 \mu\text{m}$  boyutlarına sahiptirler. Bunun yanında nokta (anaplasmod-0,5  $\mu\text{m}$  çapında), çubuk veya virgül ( $1,2 \times 0,5 \mu\text{m}$ ) formları da görülebilmektedir. İkiye bölünme ile iki kız birey veya dörtlü bölünme ile haç şeklinde dört adet kız bireyin meydana geldiği bölünme şekilleri görülür. Hem virgül hem de yuvarlak formlarında mikropor bulunurken, her ikisinde de kutup halkası, konoid veya subpeliküler mikrotübül bulunmaz (Schein ve ark, 1978).





**Resim 2.** Giemsa ile boyalı lenf frotisinde *T. annulata*'nın şizont formu (Orijinal)

Koch cisimcikleri olarak adlandırılan yapılar dalak ve lenf yumrularında lenfositler içerisinde veya bu organlarda serbest olarak bulunmaktadır. Ortalama 8  $\mu\text{m}$  çapında iken 15 hatta 27  $\mu\text{m}$  çapa kadar ulaşabilmektedirler. İki tip Koch cisimciği tanımlanmaktadır. Makromeront veya makroşizont olarak adlandırılanlar, 0,4-1,9  $\mu\text{m}$  çapında kromatin granülleri ihtiva ederler. Daha sonra çekirdeklerinin ileri aşamaya bölünmesiyle kromatin granülleri 0,3-0,8  $\mu\text{m}$  çapındaki mikromerontlar haline gelirler ve 0,7-1,0  $\mu\text{m}$  çapındaki merozoitleri şekillendirirler (Schein ve ark, 1975, Mehlhorn ve ark, 1975, Schein ve Friedhoff, 1978).

Türkiye'de *T. annulata*'nın tespiti ilk kez Samuel ve Raif (1930) ve sonraki yıl Lestoquard ve Erbin (1931) tarafından yapılmıştır (Mimioğlu ve ark, 1969). İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalar sayesinde ülkenin çeşitli bölgelerinde yaygın olarak görüldüğü ortaya konmuştur (Mimioğlu, 1955; Özcan, 1961; Göksu, 1970; Çakmak, 1987; Vatansever ve ark, 2002; Karagenç ve ark, 2005a-b; Bilgin, 2007; Peker, 2014).

### 2.3.1.2. *Theileria parva* (Theiler, 1904) Bettencourt, França ve Borges, 1907

Sığır, zebu, manda, buffalo ve antiloplarda eritrosit ve lenfositler içerisine yerleşen ve yüksek derecede patojen olan *Theileria parva*; *Piroplasma kochi*, *P. parvum*, *P. bacilliformis*, *Gonderia bovis*, *G. lawrencei*, *Theileria kochi*, *T. bovis*, *T. lawrencei* gibi sinonim isimlere de sahiptir. Sebep olduğu hastalık da aynı şekilde Doğu Sahil Humması (East Coast Fever-ECF), sığır theileriosisi (bovine theileriosis), Afrika sahil humması, Rodeziyan kene humması (Rhodesian tick fever), Rodeziyan Kızıldeniz hastalığı (Rhodesian redwater disease), ocak hastalığı (january disease veya fortuna disease), dönme hastalığı veya koridor hastalığı gibi isimler almaktadır. Doğu ve Orta Afrika'daki en önemli hastalık etkenlerinden biridir (Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; Preston, 2001; Altay ve Aktaş, 2004).

Coğrafi yayılışı incelendiğinde Orta, Doğu ve Güney Afrika'da karşılaşıldığı görülmüştür. Etkenin naklinden sorumlu vektör kenelerin başta kahverengi kulak kenesi olarak bilinen *Rhipicephalus appendiculatus* olmak üzere, *R. zambesiensis*, *R. duttoni*, *R. simus* ve *R. evertsi* olduğu bilinmektedir (Norval ve ark, 1992).

Morfolojik olarak incelendiğinde; eritrosit içi formlar olan trofozoitler ağırlıklı olarak omak (1,5-2,0 × 0,1-1,0 µm), yuvarlak, oval veya virgöl formlarda görülmektedir. Koch cisimcikleri (merontlar) dalakta lenfosit veya endotelial hücrelerde ya da lenf yumrularında çok sayıda görülür ve ortalama 8 µm çapta hatta 12 µm veya daha büyük boyutlarda olabilirler (Levine, 1985; Taylor ve ark, 2007).

Bazı araştırmacılar tarafından *T. parva*'nın alt türlere ayrılması gerektiği düşünölmüş ve önerilmiştir. Bu alt türler arasında serolojik ve morfolojik farklılık bulunmamasına rağmen biyolojik ve epidemiyolojik farklar olduğu söylenmiştir. Doğu Sahil Humması hastalığından *Theileria parva parva*, Zimbabwe theileriosisi ve ocak hastalığından *T. p. bovis* ve koridor hastalığından da *T. p. lawrencei* alt türlerinin sorumlu olduğunu düşünmüşlerdir. (Uilenberg, 1976; Lawrence, 1979; Uilenberg, 1981; Uilenberg ve ark, 1982). Öte yandan yapılan nükleik asit tabanlı çalışmalar bu alt türler arasında genetik bir farklılık bulunmasına rağmen bunun alt tür oluşturacak bir sınıflandırmaya yeterli olmadığını öne sürmüşlerdir (Bishop ve ark, 2002). Bunun yerine *T. parva*'nın parazitlendiği omurgalı konak türü temel alınarak, sığır kökenli ve manda kökenli şekilde bir ayırım yapılabileceği de söylenmiştir (Anon, 1989).

Doğu sahil humması, Doğu ve Orta Afrika'da endemik olarak görölmekte ve tedbir alınmadığı takdirde % 90'lara varan bir ölüm oranı gösterebilmektedir. Koridor hastalığı da akut ve genellikle ölümcül seyreden bir hastalıktır. Bizon kaynaklı *T. parva* tarafından

oluşturulmakta ve klinik görünüm itibariyle Doğu Sahil Humması'na benzerlik göstermekle birlikte daha kısa sürmektedir. Bu etkenler sığırlara iyi adapte olmamışlardır. Şizontlar Doğu Sahil Humması'ndakine göre daha az ve daha küçük olduğu için çoğunlukla sığırlarda piroplazmik formları şekillendiremezler. Dolayısıyla vektör keneler sığırdan kan emerek etkenleri başka bir konağa nakledemezler. Bu da hastalığın epidemiyolojisi bakımından önemlidir. Ayrıca patojenitede yalnızca şizontlar etkilidir. Dönme hastalığı ise *T. parva* ile enfekte lenfositlerin beyin kapillar damarlarında çökelti oluşturması sonucu şekillenen anormal formda bir *T. parva* enfeksiyonudur. Klinik olarak yüksek ateş görülmeyen fakat sinirsel belirtiler gösteren bir hastalıktır (Preston, 2001; Altay ve Aktaş, 2004; Lawrence ve ark, 2006).

### **2.3.1.3. *Theileria mutans* (Theiler, 1906) França, 1909**

Coğrafi olarak Afrika kıtasının Sahra altı bölgelerinde ve bazı Karayip Adaları'nda sığır, manda ve zebularda parazitlenen *Theileria mutans*'in sinonimleri bazı kaynaklarda (Levine, 1985; Norval ve ark, 1992); *Piroplasma mutans*, *T. buffeli*, *T. orientalis*, *Gonderia mutans*, *Babesia mutans* şeklinde verilmektedir. Ancak günümüzde *T. mutans*'in *T. buffeli/orientalis* grubundan farklı bir tür olduğu bilinmektedir. Koyunlarda da latent seyirli bir enfeksiyona sebep olabildiği bildirilmiştir (Uilenberg, 1981; Preston, 2001). Önceleri Dünya'nın çeşitli bölgelerinde tespit edilen az patojen türlerin *T. mutans* olduğu düşünülmüş ve bu şekilde bildirilmiştir. Benzer şekilde Avrupa, Amerika ve bazı Akdeniz ülkelerinde de karşılaşılan *T. orientalis* türünün uzunca bir zaman boyunca *T. mutans* olduğu zannedilmiştir. Bu sebeplerden ötürü *T. mutans*'in patojenitesi hakkında tartışmalar devam etmiş ve iyi huylu olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte esasen mandaların paraziti olarak kabul edilen *T. mutans*'in sığırlarda çoğunlukla iyi huylu theileriosis neden olmasının yanında, özellikle Doğu Afrika'da parazitin patojen suşlarının bulunduğu ve ölümlere neden olabilen şiddetli enfeksiyonlardan sorumlu olduğu bildirilmiştir (Young ve ark, 1978; Shah-Fischer ve Say 1989; Stewart ve ark, 1996; Stockham ve ark, 2000; Sugimoto ve Fujisaki, 2002). Bunun yanında *T. mutans* enfeksiyonlarında sığırlarda, özellikle de diğer kene kaynaklı parazit enfeksiyonlarla birlikte seyrettiği veya yetersiz beslenmeye bağlı stres faktörlerinin de bulunduğu vakalarda verim düşüklüğünün gözlemlendiği bildirilmiştir (Brown ve ark, 1990).

Etkene vektörlük yapan kene türlerinin önceleri *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor* ve *Ixodes* cinsinde yer alan keneler olduğu düşünülmüştür. Sonradan ise asıl vektörleri Afrika ve Karayip Adaları'nda *Amblyomma variegatum*, *A. cohaerens*, *A. haebraeum*, *A. gemma*, *A. lepidum* olarak tanımlanmıştır (Uilenberg ve ark, 1974; Young ve ark, 1977a-b; 1978; de Vos ve Roos, 1981a; Lawrence ve ark, 1981; Morzaria ve ark, 1981; Paling ve ark, 1981; Levine, 1985).

Biyolojik olarak diğer *Theileria* türleri ile benzerlik gösteren bir yaşam döngüsü geçirmekte ancak *T. mutans*'ta çoğalma şizogoni aşamasında değil piroplazmik aşamada olmaktadır (de Vos ve ark, 1981; Lawrence ve ark, 2006).

Eritrositler içerisindeki trofozoit formları yuvarlak, oval, armut, virgül veya nokta (anaplasmoid) tarzında olabilmektedir. Yaklaşık olarak % 55 civarının yuvarlak veya oval olduğu düşünülmektedir. Yuvarlak formları 1-2 µm çapında, oval olanları 1,5 x 0,6 µm boyutlarındadır. Eritrosit içerisinde ikiye veya dörde bölünme gerçekleşir. Dalak ve lenf nodüllerinde serbest veya lenfositler içerisinde bulunan merontlar (Koch cisimcikleri) ortalama 8 µm çapta iken bu büyüklük 20 µm'ye kadar ulaşabilmekte ve 1-2 µm çap içerisinde 1-80 arasında değişen kromatin granülleri ihtiva edebilmektedirler (Levine, 1985; Taylor ve ark, 2007).

#### **2.3.1.4. *Theileria sergenti/buffeli/orientalis* grubu**

Norval ve ark (1992) bu grupta yer alan türlerin ayrı ayrı ilk tespitini yapan araştırmacıları; *T. sergenti* için Yakimov ve Dekhterev, 1930; *T. buffeli* için Neveu-Lemaire, 1912; ve *T. orientalis* için de Yakimov ve Sudachenkov, 1931 şeklinde vermektedir.

Bu gruptaki türlere Afrika, Avrupa, Amerika, Avustralya ve Uzak Doğu'da rastlandığı bildirilmiş, sığırlarda anemiyle seyreden iyi huylu *Theileria* etkenleri olarak tanımlanmışlardır. Sınıflandırmadaki yeri konusu hala tam olarak netlik kazanmamakla birlikte, bu gruptan Avustralya'da tespit edileni *T. buffeli*, Japonya'da tespit edileni *T. sergenti* ve diğer bölgelerde tespit edileni de *T. orientalis* olarak adlandırılmıştır (Stewart ve ark, 1996; Kawazu ve ark, 1999; Sugimoto ve Fujisaki, 2002). Dolayısıyla sınıflandırılmaların coğrafi kökene göre yapıldığı düşünülmektedir. Bununla birlikte izolatlar arasında; vektör kene türleri, atipik piroplazmik formların varlığı veya makroşizontların şekillenmesi gibi bazı biyolojik farklılıklar gözlemlendiği bildirilmiştir (Gubbels ve ark, 2000). Parazitlerin tanımlanması ve sınıflandırmadaki yerlerinin doğru tespit edilebilmesi amacıyla

MSPS (Major piroplasm surface protein) ve 18S rRNA dizilimleri üzerine yapılan çalışmalarda *T. sergenti/buffeli/orientalis* iyi huylu *Theileria* grubu olarak isimlendirilmiştir. Fakat buna rağmen günümüzde *T. sergenti* adı taksonomik olarak pek kullanılmamaktadır. Çoğunlukla *T. orientalis/buffeli* olarak anılan bu türün/türlerin sınıflandırmadaki konumları günümüzde hala tam olarak netlik kazanmamıştır (Kamau ve ark, 2011). Bu grupta yer alan türlerin henüz net bir şekilde ayrımlarının yapılamamakta oluşunun, genetik çeşitliliğe yol açan dinamik bir evrim sürecinin hali hazırda devam etmekte olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Schnittger ve ark, 2003). Literatürlerde bu isimler ayrı veya grup halinde birlikte kullanılmaktadır (Gubbels ve ark, 2000). İyi huylu türler arasında sayılmasına rağmen *T. sergenti* enfeksiyonunun Japonya, Batı Rusya ve Batı Çin'de sığırlarda ölümle sonuçlanabileceği de belirtilmiştir (Sugimoto ve Fujisaki, 2002; Bishop ve ark, 2004; He ve ark, 2005).

Bu türlerin yaşam döngülerinde diğer türlere göre farklı bir durum dikkat çekicidir. Omurgalı konakta şizontlar lökositlerin transformasyonuna yol açmamakta ve öldürücü lenfoproliferasyona neden olmamaktadırlar. Parazitin biyolojisi ile ilgili yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda enfekte olmuş lenfositlerin proliferasyonu kanıtlanamamıştır. Bu farklılık, iyi huylu olarak bilinen bu türlerin diğer patojen türlerden ayırımındaki en önemli özellik olarak kabul edilmektedir. Bu yüzden hastalığın patojenitesinde şizontların sorumluluğu bulunmamaktadır. Şizontlar yalnızca geçici olarak lenf nodülleri, dalak ve karaciğerde görülürler. Hastalığın patojenitesinde yalnızca piroplazmik formlar rol oynamakta dolayısıyla klinik görünümde anemi belirgin bir yer tutmaktadır (Sato ve ark, 1993; Sugimoto ve Fujisaki, 2002). Etkenlerin vektörü olarak *Haemaphysalis longicornis*, *Hae. humerosa* ile *Amblyomma* ve *Dermacentor* cinsi kenelerin rol aldığı düşünülmüştür (Fujisaki ve ark, 1985; Higuchi ve ark, 1987; Stewart ve ark, 1987; 1988; Sugimoto ve Fujisaki, 2002). Yine yapılan *in vivo* bir çalışmada (Hayashida ve ark, 2012) enfekte lenfosit içerisinde 4-8 günlük bir periyotta devamlı bir şizont büyümesi sonrasında hücrenin parçalanması ile çok sayıda merozoitin serbest kaldığı gözlenmiştir. Konağa ait enfekte hücrelerde proliferasyon gözlenmemiş ancak hücre büyümesi dikkat çekmiştir (Hayashida ve ark, 2012).

İran'da yapılan bir çalışmanın sonuçları, sığırlarda parazitlendiği bilinen *T. buffeli*'nin konak özgüllüğü konusunda bilinenleri tartışmaya açacak türden olmuştur (Gholami ve ark, 2016). İran'ın kuzeyindeki Mazandaran ilinin doğu, merkez ve batı bölgelerinde 52 insan ve bunlara ait 23 çoban köpeği üzerinde yürütülen çalışmada köpeklerin üçü (% 13) hem mikroskopik hem de PCR ile *Theileria* spp. pozitif bulunmuş, insanlarda

enfeksiyona rastlanmamıştır. Pozitif bulunan örneklerin 18S rRNA gen bölgesi dizi analizi sonuçlarında *T. buffeli*, *T. luwenshuni* ve *T. ovis* tespit edilmiştir. *T. buffeli*'de yalnızca bir kodonda (Haplotip çeşitliliği; 0,875) değişim ve 0,5-2,5'lik bir sapma ile % 97,6-99,5 oranında benzerlik saptanmıştır (Gholami ve ark, 2016). Dünya'da bir çoban köpeğinde bu türlere ilk kez rastlanmasının, etkenlerin rezervuar konakları ve hastalığın epidemiyolojisi açısından oldukça önem taşıdığı ve yeni tartışmalara sebep olacağı ve dolayısıyla yeni çalışmalara kapı açacağı düşünülmektedir.

### 2.3.1.5. *Theileria taurotragi* (Martin ve Brocklesby, 1960)

İyi huylu Afrika theileriosis etkeni olarak tanımlanan (Preston, 2001) *T. taurotragi* ilk bildirildiğinde *Cytauxozoon taurotragi* ismiyle anılmaktaydı (Brocklesby, 1962; Taylor ve ark, 2007). Doğu ve Batı Afrika'da yaygın olarak görülen etken geyik ve antilopların bir paraziti olmakla birlikte sığır, koyun ve keçileri de enfekte ettiği bildirilmiştir (Norval ve ark, 1992; Preston, 2001). Sığırlarda genellikle apatojen olsa da, 1-14 gün kadar süren subklinik veya hafif ateşli enfeksiyonlara sebep olabilmekte, ancak sporozoitlerin inokule edildiği yüzeysel lenf yumrusunda hafif bir büyüme dışında her hangi bir klinik belirtiyeye rastlanmamaktadır (Preston, 2001). Bununla birlikte sığırlarda *T. parva* ile birlikte ikili enfeksiyon şeklinde bulunarak, anormal bir form olan dönme hastalığına neden olabilmektedir (de Vos ve ark, 1981; Preston, 2001). Ani bir şekilde başlayan bu hastalığın, enfekte lenfoblastların merkezi sinir sistemi kan damarları içerisinde birikmesinden dolayı tromboz ve enfarktüse sebebiyet vermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Uilenberg, 1981; Preston, 2001). Koyunlarda iyi huylu seyretmektedir. Geyik ve antilopta ise bazen şiddetli veya ölümcül enfeksiyona sebep olabilmektedir (Preston, 2001).

Piroplazmik formları morfolojik olarak *T. parva*'ya benzerdir. Ağırlıklı olarak yuvarlak ve oval formları görülürken, çomak veya virgül (1,2 x 0,5 µm) formları da bulunabilmektedir (Taylor ve ark, 2007). Sığırlarda makroşizontları genellikle küçük ve *T. parva*'ya benzerdir. Bunun yanında geyik ve antiloplarda veya hücre kültüründe şizontların bazen büyük bir kütle halini alabildikleri, bunun da *T. taurotragi*'nin farklı hücre tiplerini enfekte ettiğinin kanıtı olduğu düşünülmektedir (Brocklesby, 1962; Stagg ve ark, 1976). Parazitin yaşam döngüsünde vektör rolü oynayan kenelerin; *Rhipicephalus appendiculatus*, *R. zambeziensis* ve *R. pulchellus* olduğu bildirilmiştir (Young ve ark, 1977b; Lawrence ve ark, 1983).

### 2.3.1.6. *Theileria velifera* (Uilenberg, 1964)

Afrika'da yaygın olarak görülen *T. velifera* ilk defa Madagaskar'da bir sığırdan tespit edilmiş ve *Haematoxenus veliferus* ismiyle tanımlanmıştır (Uilenberg, 1964). Asıl konağı manda olmakla birlikte sığırlara da nakledilebilmektedir. İyi huylu *Theileria* türleri arasında yer alan bu türün apatojen olduğu düşünülmektedir ve enfekte hayvanlarda her hangi bir hastalık belirtisi gözlenmemiştir. Doğu, batı, orta ve güney olmak üzere Afrika'nın pek çok bölgesinde görülmesine karşın, *Amblyomma variegatum*, *A. lepidum*, *A. hebraeum* türü keneler tarafından nakledilmesi nedeniyle özellikle bu kenelerin yayılım gösterdiği Afrika'nın Güney Sahra bölgelerinde karşılaşılmaktadır (Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; Taylor ve ark, 2007).

Morfolojik olarak incelendiğinde; eritrositler içerisindeki trofozoit formlarının çeşitli şekillerde (pleomorfik) olabildiği fakat çoğunlukla 1-2 µm uzunluğunda küçük çomak biçimli olduğu görülmüştür. Büyük çoğunluğunda 1 x 3,5 µm uzunluğunda ve yana doğru uzanan dikdörtgen örtü veya perde benzeri bir yapı (rectangular veil) bulunur (Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; Taylor ve ark, 2007).

### 2.3.1.7. *Theileria sinensis*

Çin'in Gansu bölgesinde sığırdan elde edilmiş olan bir izolat, *Theileria* cinsine özgü genomik DNA primer çifti kullanılarak çoğaltılmış ve bu cinste yer aldığı anlaşılmıştır. Sonrasında 18S rRNA dizi analizi yapılarak, geçerliliği kabul görmüş dokuz *Babesia* ve yedi *Theileria* türü ile karşılaştırılmış ve yeni bir *Theileria* türü olduğu anlaşılacak *T. sinensis* olarak adlandırılmıştır. Filogenetik olarak *T. buffeli* ve *T. sergenti* ile yakın, *T. annulata*, *T. parva*, *T. taurotragi*, *T. mutans*, *T. velifera* ile uzak akraba olduğu açıkça ortaya konmuştur. *Haemaphysalis qinghaiensis*'in vektörlük yaptığı, iyi huylu olduğu düşünülen *T. sinensis*'den kaynaklanan enfeksiyonlarda ilerleyen kronik anemi görülebildiği, bunun yanında enfeksiyonun nadiren de olsa ölümle sonuçlanabileceği bildirilmiştir (Bai ve ark, 2002a-b; Liu ve ark, 2012).

### 2.3.2. Sığırlarda Parazitlenen *Babesia* Türleri

Dünya'nın pek çok bölgesinde *Babesia* türleri koyun, keçi, tektırnaklılar, köpek, kedi, domuz ve insan dahil çeşitli memeli hayvanlar için olduğu gibi sığırlar için de önemli enfeksiyon etkenleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Kenelerle nakledilen patojenlerden olan *Babesia* cinsi içerisinde vahşi ve evcil omurgalı hayvan türlerinde parazitlenebilen 100'ün üzerinde tür tespit edilmiştir (Telford ve ark, 1993). Babesiosisin etiolojisinin aydınlatılmasından günümüze yüz yıldan fazla süredir devam eden araştırmalar sayesinde sığırlarda parazitlenen sekiz *Babesia* türü bulunmuştur. Bu türlerden *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens*, *B. major* en yaygın ve en bilinenleridir (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Uilenberg, 2001). Bunlara eklenen yeni türler; Güney Kore ve Tayvan'dan *B. ovata* (Minami ve Ishihara, 1980), Güney Afrika'dan *B. occultans* (Gray ve De Vos, 1981), SSCB'den *B. jakimovi* ve *B. beliceri*'dir (Nikolskii ve ark, 1977; Krylov, 1981; Kuttler, 1988; Luo ve ark, 2002; Mehlhorn, 2008b; Decaro ve ark, 2013; Russel ve ark, 2013; Sivakumar ve ark, 2016). Ancak bunlardan *B. jakimovi* ve *B. beliceri*'nin yeni türler olup olmadığıyla ilgili tartışmalar devam etmektedir. Örneğin Uilenberg (2006), bu ikisinin yeni türler olarak kabul görmediğini yazmaktadır. Bununla beraber aynı yazar, *B. occultans*'in da *B. beliceri*'den farklı bir tür olma durumunun henüz kanıtlanmadığından bahsetmektedir. Bu bahsedilen türlere ilaveten, sekans ve filogenetik analiz çalışmalarının yardımıyla; Çin'in Xinjiang bölgesinde sığırlardan izole edilmiş olan *Babesia* sp. Kashi 1 ve *Babesia* sp. Kashi 2 ile Türkiye'de Kayseri ilinde saptanmış olan *Babesia* sp. Kayseri sekansları da ortaya konmuştur. Bunlar hakkında henüz detaylı bilgiler bulunmasa da, *Babesia* sp. Kayseri'nin filogenetik olarak, henüz tam tanımlanmamış türler olan *Babesia* sp. Kashi 1 ve *Babesia* sp. Kashi 2 ile *B. occultans* ve koyunlardan izole edilmiş bir suş olan *Babesia* sp. Xinjiang ile % 96,8-100 oranlarında akrabalık ilişkisi olduğu anlaşılmıştır (İça ve ark, 2007a; Guan ve ark, 2009).

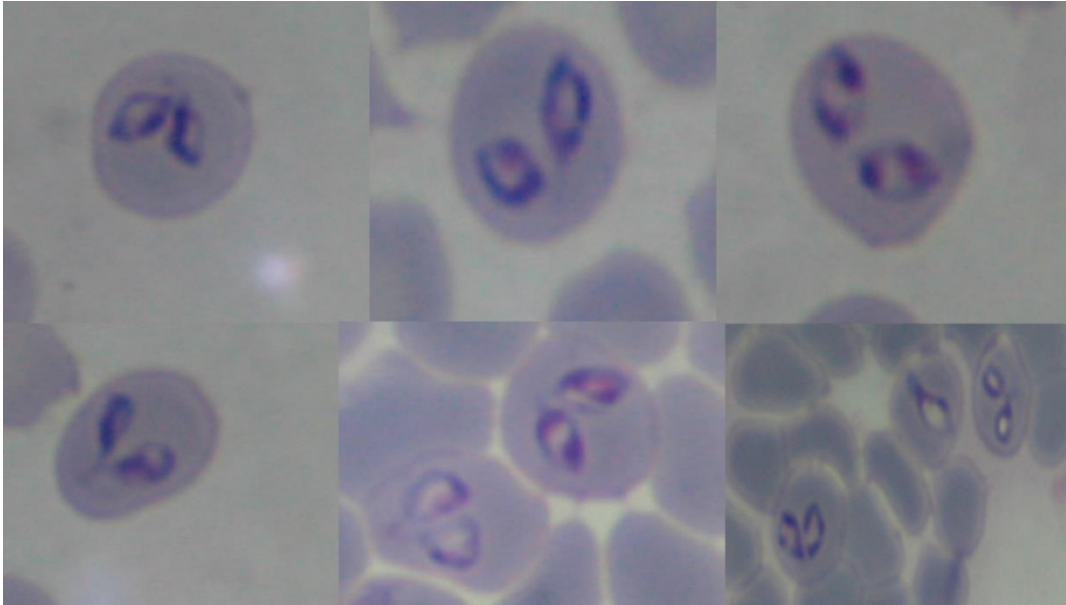
Omurgalı konağın eritrositleri içerisindeki piroplazmik formların boyutlarına göre *Babesia* türleri morfolojik olarak büyük ve küçük türler şeklinde ikiye ayrılmaktadır. Büyük türler yuvarlak, oval veya armut formunda ve ortalama 2,5 x 5 µm iken küçük türler yuvarlak, tek veya çift armut formunda ve ortalama 1 x 2,5 µm boyutlarında olmaktadırlar. Sığırlarda görülen türlerden *B. bigemina*, *B. major*, *B. ovata*, *B. occultans*, *B. jakimovi* ve *B. beliceri* büyük türlerden, *B. bovis* ve *B. divergens* ise küçük türlerdendir (Levine, 1985; Kuttler, 1988; Uilenberg, 2001; Mehlhorn, 2008b).



### 2.3.2.1. *Babesia bigemina* (Smith ve Kilborne, 1893)

Sığır, zebu, manda, bufalo ve geyiklerde parazitlendiği bilinen *Babesia bigemina*'nın çeşitli sinonim isimleri vardır. Bu isimlerden bazıları *Pyrosoma bigeminum*, *Apiosoma bigeminum*, *Piroplasma bigeminum*, *P. australe*, *P. bubali*, *B. hudsonius bovis*, *B. bubali* ve *Luhsia bigemina*'dir. *B. bigemina* sığır babesiosisi, piroplazmosis, kızılısu humması (red water fever), Teksas humması, kene humması gibi isimlerle anılan hastalıktan sorumludur. Coğrafi olarak; Afrika, Avustralya, Avrupa, Orta Doğu, Güney ve Orta Amerika ve Meksika dâhil dünyanın pek çok bölgesinde görülmektedir (Levine, 1985). Türkiye'de sığırlarda en sık görülen *Babesia* türüdür (Yukarı, 2004).

Vektörleri; Avrupa'da *Haemaphysalis punctata*, Kuzey Afrika ve Rusya'da *Rhipicephalus (Boophilus) calcaratus*, Güney Afrika'da *R. (B.) decoloratus*, *B. geigyi*, *Rhipicephalus appendiculatus* ve *R. evertsi*, Kuzey Afrika'da *R. bursa*, Kuzey Amerika'da *R. (Boophilus) annulatus*, Güney ve Orta Amerika'da *R. (B.) microplus*, Avustralya'da *R. (B.) australis* ve *R. (B.) annulatus*, şeklinde sıralanabilmektedir. Adı geçen tüm bu türlerde transovarial nakil gerçekleşebilirken, *Haemaphysalis* ve *Rhipicephalus* türlerinde artı olarak transstadial nakil de söz konusudur (Levine, 1985; Smyth, 1994; Eckert ve ark, 2005; Bock ve ark, 2008). Vektör kenelerden *R. (B.) annulatus* ahıra da yerleşebildiğinden, ahırların sıcak olduğu durumlarda kış aylarında da *B. bigemina*'dan kaynaklanan enfeksiyonlara rastlanabilmektedir (Yukarı, 2004).



**Resim 3.** Giemsa ile boyalı kan frotisinde *B. bigemina*'nın tek ve çift armut görünümündeki piroplazmik formları (Orijinal)

Morfolojik incelemesinde; eritrosit içerisindeki merozoitler armut formunda, yuvarlak, oval veya düzensiz şekillerde olabilmektedirler. Armut formundaki merozoitler karakteristik olarak çoğunlukla çift armut şeklinde ve dar açılı olarak görülürler. *B. bigemina* nispeten büyük bir *Babesia* türüdür ve ismi de buradan gelmektedir. Yuvarlak formları 2-3 µm çapında ve çomak formunda olanları da 4-5 µm uzunluğundadır. *B. bigemina*'nın eritrositer gelişim aşaması apikompleks yapılardan olan konoid, mikropor ve tipik mitokondriden yoksundur. Tipik bir golgi aygıtı bulunmaz. Belirgin veya kristası bulunmayan ama fonksiyonu henüz belirsiz olan anterior siferoid body bulundurabilen mitokondri benzeri bir veziküle (kese) sahiptir. Ön ve arka uçta kutup halkası ve 2 adet tipik roptri mevcuttur (Levine, 1985; Taylor ve ark, 2007). Küresel formları *R. (B.) microplus* ve *R. (B.) decoloratus*'un yumurtalıklarında, konak tarafından şekillendirilmiş parazitofor bir vakuol içerisinde bulunurlar ve burada uzunlamasına ve kıvrık kinetlere dönüşürler. Bunlar çok sayıda mikronem, 32 adet subpelikular rib (zaraltı kaburga), 32 adet subpelikular mikrotübül, kutup halkası ve roptri bulundururken, golgi kompleksi, mitokondri ve konoide sahip değildirler. Kinetler 11-12 µm uzunluğundadırlar (Mehlhorn ve Schein, 1984; Levine, 1985; Friedhoff, 1988).

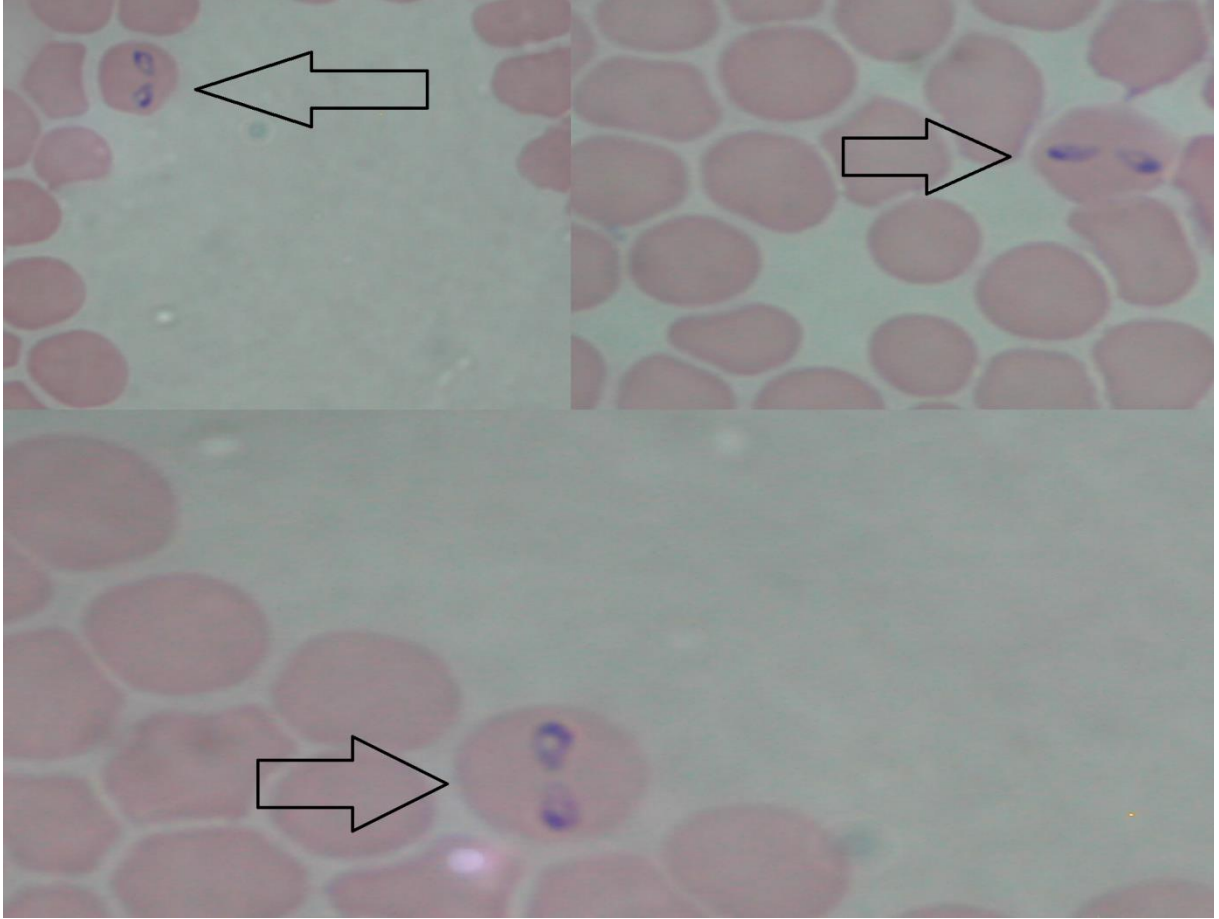
Vektör kenelerden *R. (B.) microplus*'un tükürük bezlerinde bulunan sporozoitler uzunca armut şeklindedirler. Üç katlı bir membran, çekirdek, apikal mikronem, birkaç roptri, mitokondri, bir veya daha fazla sayıda küresel cisim (spheroid body) sahibidirler (Friedhoff ve Scholtyseck, 1969, Weber ve Friedhoff, 1979; Weber, 1980).

Erişkin hayvanlar için yüksek derecede patojenik olabilirken, buzağılar nispeten enfeksiyona karşı dirençlidirler ve çoğunlukla klinik belirti göstermezler. Erişkin hayvanlarda inkübasyon periyodu 8-15 gün arasında değişen enfeksiyonda ilk belirti 41-42°C ateştir. Halsiz, ilgisiz ve iştahsız olan hayvanda geviş getirme durmuş veya durma noktasına gelmiştir. Dışkı sarımsı kahve renklidir. Her zaman olmasa da hemoglobinuri görülebilir. Piroplazmik formları omurgalı konak eritrositlerinde şiddetli ve devam eden bir tahribata yol açtığı için sığırlarda şiddetli anemi ve hemoglobinüri görülür. Eritrositlerdeki tahribat oranının % 75'in üzerine çıkabildiği belirtilmiştir. Akut vakalarda 4-8 gün içerisinde ölüm gerçekleşebilir. Mortalite oranı % 50-90 arasındadır. (Mimioğlu ve ark, 1973; Mahoney, 1977; Levine, 1985). Kronikleşmiş vakalarda vücut sıcaklığı yüksek olmayabilir ve genellikle hemoglobinuri gözlenmez. Ama sarımsı bir dışkı ile seyreden ishal veya kabızlık görülebilir. Bunun yanında hayvan oldukça hızlı bir güç ve kilo kaybı yaşar, tam bir iyileşme sağlanana kadar haftalarca zayıf ve güçsüz kalabilir (Levine, 1985).

### 2.3.2.2. *Babesia bovis* (Babes, 1888) Starcovici, 1893

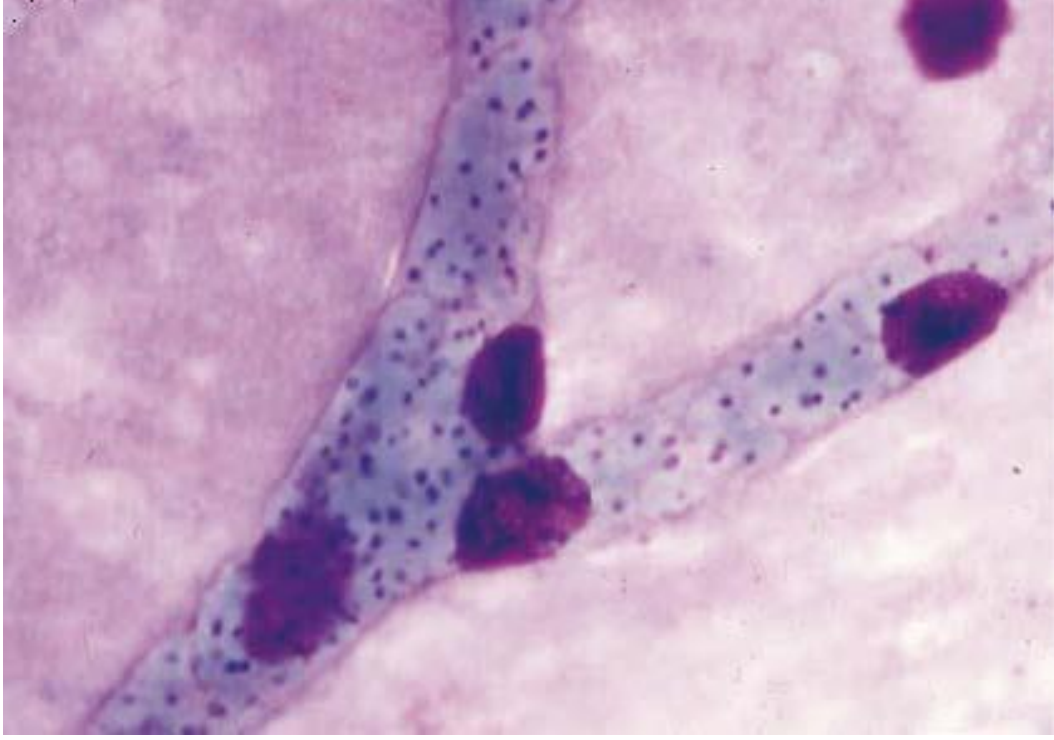
Sığırlarda parazitlenen *Babesia* türleri içerisinde *B. bovis* genellikle en patojen tür olarak kabul edilmektedir (Urquhart ve ark, 1996; Taylor ve ark, 2007). Sığır, bufalo, yak, geyik ve karacada parazitlenebilen *B. bovis*'in sinonimleri; *Haematococcus bovis*, *Piroplasma bovis*, *P. argentinum*, *Babesiella bovis*, *Babesiella berbera*, *Babesia argentina*, *Babesia berbera*, *B. colchica*, *Francaiella colchica*, *F. argentina*, *F. berbera*, *Microbabesia argentina*, *M. berbera*, *M. bovis* ve *Luhsia bovis*'dir (Levine, 1985; Niu ve ark, 2015). Bu hayvanlara ek olarak etiolojisinde *B. bovis*'in rol oynadığı insan vakaları da bildirilmiştir (Brocklebsy 1979). Sığır babesiosisi, kızıl su ve piroplazmosis gibi isimler alan hastalığın etkeni olan *B. bovis*'e Güney Avrupa, Afrika, Asya, Orta Doğu, Rusya, Orta ve Güney Amerika'da rastlanırken, ABD ve Kanada'da görülmediği bildirilmiştir (Levine, 1985; Taylor ve ark, 2007).

Vektör olarak; Rusya'da *Ixodes persulcatus*, Avrupa ve Kuzey Afrika'da *R. (B.) calcaratus* ve *Rhipicephalus bursa*, Güney Amerika'da *R. (B.) microplus*, Avustralya'da *R. (B.) australis* ve *R. (B.) microplus*, ayrıca Avrupa'da *Ixodes ricinus* rol oynamaktadır. Tüm vektörlerde transovarial nakil söz konusu iken, *Rhipicephalus*'da ayrıca transstadial nakil de olabilmektedir. Ayrıca intrauterin nakil de bildirilmiştir (Neitz, 1956; Taylor ve ark, 2007). *B. bovis*'in naklinde vektör kenenin nimf ve yetişkin dönemlerinden ziyade, larva döneminin daha etkin olduğu tespit edilmiştir (Callow, 1979; 1984).



**Resim 4.** Giemsa ile boyalı kan frotisinde *B. bovis*'in çift armut görünümündeki piroplazmik formları (Orijinal)

Küçük *Babesia* etkenlerinden olan *B. bovis*'in omurgalı konak eritrositleri içerisindeki merozoitleri armut, yuvarlak veya düzensiz şekillidir. Genellikle ortasında büyük bir vakuol ve kenarında çekirdek bulunan yuvarlak formlar şeklinde eritrositin merkezinde görülürler. Bunun yanında çift armut veya gözlük şeklinde de görülebilmektedirler. Armut formundaki *B. bovis* merozoitleri ortalama 2,4 x 1,5 µm büyüklüğünde iken, yuvarlak formları 1-1,5 µm boyutlarındadır (Levine, 1985; Urquhart, 1996; Taylor ve ark, 2007).



**Resim 5.** *B. bovis* merozoitlerinin beyin kapillar damarları içerisindeki görünümü (Shkap ve ark, 2007)

*B. bovis* “sığırların salgın hemoglobinuri hastalığı” etkenidir. (Yukarı, 2004). Hastalık tablosu *B. bigemina* enfeksiyonuna benzerdir. İnkübasyon periyodu 4-10 gün arasındadır. İlk klinik belirti 2-3 gün süren 40-41°C vücut sıcaklığıdır. Yine aynı şekilde hemoglobinuri, anemi, ikterus, ishal ve kalp atım hızında artışla birlikte ölüm görülebilir. Suşların patojeniteleri çeşitlilik gösterebilmektedir (Levine, 1985). Babesiosis semptomlarına ilave olarak genel bir zayıflama tablosu, kas titremeleri ve kıllarda matlık gibi belirtiler de gözlenebilir (Yukarı, 2004). Avustralya’da Pierce (1956) ve Meksika’da Smith ve ark (1980) *B. bovis*’in *B. bigemina*’ya oranla daha patojen olduğu bildirilmiştir. Bunlara ilaveten *B. bovis* enfeksiyonlarında bazı vakalarda enfekte eritrositlerin kapillar damarlarda birikerek kümeleşmesi sonucu (Resim 5) damarlarda tıkanıklıklar meydana gelebilmektedir. Özellikle merkezi sinir sisteminde karşılaşılan bu durumda tıkanıklık meydana gelen bölgeye yeterli oksijen taşınamaması nedeniyle doku hasarları oluşmaktadır. Bu durum da saldırganlık, koordinasyon bozukluğu, kasılma, çarpınma, depresyon gibi belirtilerle seyreden sinir sistemi bozukluklarına ve hatta devamında ölüme kadar gidebilen vakalara sebebiyet vermektedir (Yukarı, 2004; Taylor ve ark, 2007).

### 2.3.2.3. *Babesia divergens* (McFadyean ve Stockman, 1911)

Diğer *Babesia* türleri gibi *B. divergens* de zaman içerisinde çeşitli sinonim isimler ile anılmıştır. Bu isimler; *Piroplasma divergens*, *P. rupturaeliensis*, *Microbabesia divergens*, *M. occidentalis*, *Babesiella divergens*, *B. karelica*, *B. caucasica*, *B. karelica*, *B. occidentalis*, *Francaiella caucasica* ve *F. occidentalis*'dir (Levine, 1985). Sebep olduğu hastalığa “Kızılısu Humması” denmektedir (Taylor ve ark, 2007).

Esasen sınırlı bir konak özgülüğüne sahip olduğu ve yalnızca sığırlarda parazitlendiği düşünülen *B. divergens*'in başka omurgalı konaklara da nakledilip enfeksiyon oluşturabileceği yapılan çalışmalar sayesinde ortaya konmuştur. *B. divergens* izolatının inokule edildiği dalağı çıkarılmış şempanze ve resus maymunlarında hemoglobinuri ile seyreden ve birden gelişen enfeksiyon şekillendiği gözlenmiştir. Bunun yanında dalağı alınmamış ve bağışıklık sistemi bozulmamış primatların *B. divergens* enfeksiyonlarına karşı dirençli olduğu anlaşılmıştır (Garnham ve Bray, 1959; Garnham ve Voller, 1965). İlerleyen yıllarda *B. divergens*'in dalağı çıkarılmış insanlar için de enfeksiyon kaynağı olduğu anlaşılmıştır (Fitzpatrick ve ark, 1968).

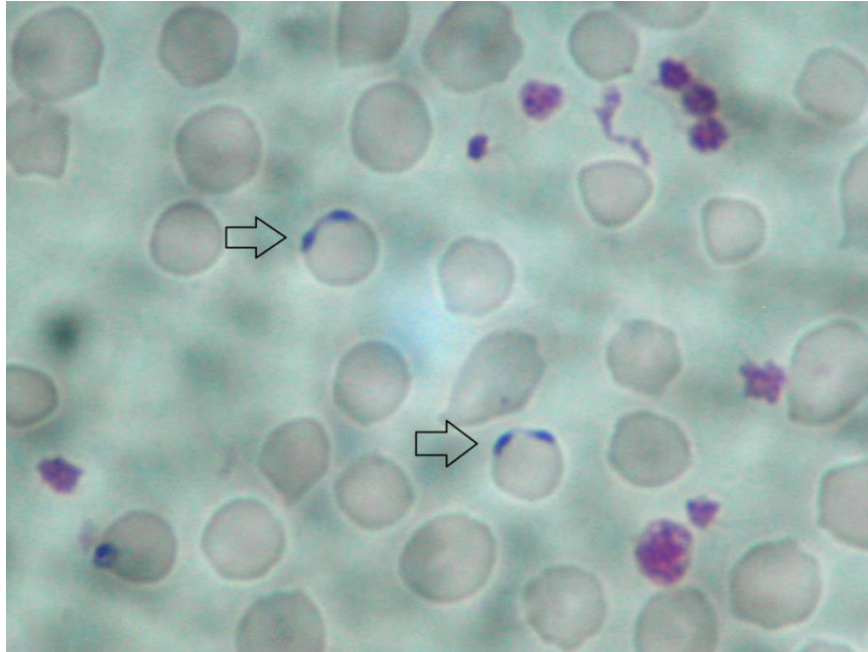
Başka çalışmalarda sığırdan elde edilen *B. divergens* izolatı, dalağı çıkarılmış yabani dağ koyunu, karaca, alageyik ile dalağı alınmamış ren geyiğine enjekte edilerek enfeksiyon gelişimi izlenmiştir. Ren geyiğinde klinik belirtiler gözlenirken diğer hayvanlarda yalnızca düşük bir parazitemi ile seyreden çok hafif bir enfeksiyon şekillendiği görülmüş fakat enfekte olan bu hayvanların kanlarının duyarlı sığırlar için enfektif olduğu kanıtlanmıştır (Enigk ve Friedhoff, 1962; Nilsson ve ark, 1965). Enigk ve Friedhoff'un (1962) deneysel olarak dalağı çıkarılmış koyun ve keçilerin *B. divergens*'e karşı tamamen dirençli bulunduğunu ifade etmelerine karşın, Chauvin ve ark (2002) dalağı çıkarılmış koyunda geçici bir parazitemi şekillendirmeyi başardıklarını bildirmişlerdir. Laboratuvar hayvanlarında da *B. divergens* enfeksiyonu üzerine deneysel çalışmalar yapılmış fakat tavşan, fare, hamster ve ratlarda enfeksiyon şekillendirilememiştir (Garnham ve Bray, 1959; Adam ve Blewett, 1974; Canning ve ark, 1976; Irvin ve ark, 1978). Laboratuvar hayvanları arasında yalnızca Moğol gerbilinin (*Meriones unguiculatus*) dalağı çıkarılmış veya çıkarılmamış olsun *B. divergens* enfeksiyonuna karşı tamamen duyarlı olduğu bildirilmiştir (Levis ve Williams, 1979).

Tüm bu çalışmalar ışığında *B. divergens*'in başta sığır olmak üzere, deneysel olarak dalağı alınmış şempanze, resus maymunu, yabani koyun, ren geyiği, alageyik, karaca, insan ile dalağı çıkarılmamış Moğol gerbilinde enfeksiyon oluşturabileceği anlaşılmaktadır.

Sığırlarda karşılaşılan *B. divergens* enfeksiyonları hafif, şiddetli veya ölümcül olabilmektedir. Enfeksiyonun şiddeti enfeksiyon kaynağı olan suşun patojenitesine ve

konağın bağışıklık durumuna göre değişiklik göstermektedir. Çoğunlukla klinik belirti göstermeyen subklinik enfeksiyonlar şeklinde karşılaşılmaktadır. Böyle durumlardaki hayvanlar uzun süre rezervuar rolü oynamaktadırlar (Malandrin ve ark, 2009). Akut vakalarda ise eritrosit içerisindeki piroplazmik formların hızlı bölünmesi ve dolayısıyla hızlı ve çok sayıda bir eritrosit tahribatı sonucu klinik olarak hemoglobinuri, hemoglominemi ve yüksek ateş gözlenir. Bu durum kandaki eritrosit hacminin % 20'nin altına düşmesi ve bundan kaynaklanan birkaç gün içerisinde gerçekleşecek ölümle sonuçlanabilir. Parazitemi enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak % 0,2 ile % 45 arasında değişkenlik gösterirken, klinik belirtiler ortaya çıktıktan sonra çoğunlukla enfekte eritrositler mikroskop altında gözlenmeye başlanır. Nispeten daha dirençli konaklarda şekillenen hafif enfeksiyonlar çoğunlukla ateş, iştahsızlık ve belki birkaç gün süren sarılık belirtileri ile karakterizedir (Taylor ve ark, 2007).

Coğrafi yayılışına bakıldığı zaman *B. divergens*'in İrlanda ve Britanya Adası'ndan başlayarak bütün Kuzey Avrupa boyunca Fransa, Belçika, Hollanda, İskandinavya (Danimarka, İsveç, Norveç), İsviçre, Almanya, Avusturya, İspanya ve Kuzey Afrika boyunca genişçe bir alana yayıldığını görmekteyiz (Zintl ve ark, 2003). Parazitin bu kadar geniş bir coğrafyada ve çoğunlukla kıyı şeridi bölgelerinde görülmesindeki en önemli etkenin, başlıca vektörü olan *Ixodes ricinus*'un coğrafi yayılışı olduğu bildirilmektedir (Snow ve Arthur, 1970; Yukarı, 2004).



**Resim 6.** Giemsa ile boyalı kan frotisinde *B. divergens*'in çift armut görünümündeki piroplazmik formları (Orijinal)

Boyutları bakımından *B. divergens*, *B. bovis*'e oranla daha küçük bir türdür. Merozoitleri çoğunlukla lobut şeklinde ve çift olarak, ortalama 1,5 x 0,4 µm büyüklüğünde ve geniş açılı şekilde görülürler. Çifti oluşturan merozoitler *B. bovis*'e göre birbirlerinden daha fazla uzaklaşmış durumda ve eritrositin çeperine uzunlamasına yerleşim gösterme eğilimindedirler. Diğer bazı merozoitler biraz daha iri ve armut formunda (ortalama 2 x 1 µm) veya yuvarlak (çapı 2 µm'den büyük) formdadırlar. Merozoitlerin konoid, mikropor, tipik golgi aygıtı ve tipik mitokondrisi bulunmamaktadır. Bunun yanında mitokondri benzeri vezikülleri vardır. Bu veziküllerin belirgin tübülleri ve kristası bulunmaz. Küresel cisimcikleri olmamasına karşın üç veya daha fazla roptriye sahiptirler (Levine, 1985; Taylor ve ark, 2007).

#### **2.3.2.4. Babesia major (Sergent, Donatien, Parrot, Lestoquard ve Plantureux, 1926)**

Sığırların büyük *Babesia* etkenlerinden olan *B. major*'ün sinonimi *Babesiella major*'dür. Kuzey Afrika, Avrupa, Güney Amerika ve Rusya'da sığır ve bizonlarda görülürken İngiltere ve Almanya'da nadiren karşılaşılmaktadır (Levine 1985; Taylor ve ark, 2007). Konak eritrositleri içerisindeki merozoitler *B. bovis*'e benzemekle birlikte daha büyüktürler. Tek veya çift armut ve yuvarlak formları gözlenmektedir. Çift armut formları genellikle 2,6 x 1,5 µm boyutlarında ve dar açı oluşturacak şekilde iken yuvarlak formları 1,8 µm çapındadırlar. Merozoitlerin eritrosit içerisindeki yerleşimi çoğunlukla eritrosit merkezidir (Levine, 1985; Taylor ve ark, 2007). Bazı kaynaklarda armut formlarının boyutları 3,2 x 1,5 µm olarak geçmektedir (Urquhart ve ark, 1996).

Yaşam döngüsü *B. bovis*'e benzemekle birlikte Rusya'daki vektörü *R. (B.) calcaratus*, İngiltere ve Almanya'daki vektörü de *Haemaphysalis punctata*'dır. Çoğunlukla hafif bir patojeniteye sahip olduğu ifade edilmektedir. Genellikle *B. bovis*'e nazaran daha az patojen olmakla birlikte farklı suşları arasında önemli ölçüde patojenite farklılıkları olabilmektedir. Antijenik yapısı bakımından *B. bigemina*, *B. bovis* ve *B. divergens*'ten farklılık göstermektedir (Levine, 1985). *B. major* enfeksiyonlarında çoğu zaman dikkat çeken bir klinik belirti gözlenmemektedir. Eğer klinik belirti meydana gelirse bu; yüksek ateş, hafif anemi ve hemoglobüri ile karakterize hemolitik sendrom şeklinde şekillenmektedir (Taylor ve ark, 2007).



### 2.3.2.5. *Babesia ovata* (Minami ve Ishihara, 1980)

Nispeten yeni türlerden sayılabilecek olan *Babesia ovata* ilk kez Japonya'da bir sığırdan izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Piroplazmik formlarının morfolojik olarak  $3,17 \times 1,65 \mu\text{m}$  boyutlarında ve 'uzunluk: genişlik indeksi'nin 1,94 olması, ayrıca tespit edilebilen çift armut formlarının % 18 düzeyinde olması ile diğer dört türden (*B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens*, *B. major*) anlamlı bir şekilde farklılık gösterdiği görülmüştür. Vektör kenenin de *Haemaphysalis longicornis* olduğu saptanmıştır. Bu izolat ile deneysel olarak enfekte edilen dokuz buzağıdan beşinde hemoglobini görülmüş, üç tanesi de ölmüştür. Şekillenen hemoglobininin şiddetinin *B. bigemina* ve *B. bovis* enfeksiyonlarına göre daha hafif, *B. major* enfeksiyonuna göre daha şiddetli olduğu gözlenmiştir. Bağışıklık ve seroloji çalışmaları da bu izolatın diğer türlerden farklılık gösterdiğini ispatlamıştır. Tüm bunlardan yola çıkarak yeni bir tür olarak tanımlanmış ve isimlendirilmiştir (Minami ve Ishihara, 1980). Takip eden yıllarda Japonya, Kore, Çin, Moğolistan ve Tayland'da da bu türe rastlandığı bildirimleri olmuş ve yapılan moleküler çalışmalar sonucu *B. ovata*'nın yeni bir tür olduğu kabul görmüştür (Arai ve ark, 1998; Cho ve ark, 2002; Liu ve ark, 2008; Sivakumar ve ark, 2012; Yoshinari ve ark, 2013; Niu ve ark, 2015).

Büyük *Babesia* türlerinden olduğu kabul edilen *B. ovata*'nın sebep olduğu enfeksiyonlar genellikle hafif seyirli olarak gözlenmiştir. Bunun yanında *B. ovata*'nın, bağışıklık sistemi baskılanmış hayvanlarda veya *T. orientalis* ile birlikte seyrettiği enfeksiyon durumlarında klinik bir görünüm ortaya çıktığı saptanmıştır (Sivakumar ve ark, 2012).

### 2.3.2.6. *Babesia occultans* (Gray ve De Vos, 1981)

İlk kez Güney Afrika'da *H. rufipes*'ten izole edilmiş ve bu kene türü ile sığırlara nakledildiği anlaşılmıştır. Bunun üzerine morfoloji, seroloji, biyoloji ve patojenitesi üzerine geniş çaplı bir araştırma yapılmıştır. Güney Afrika çapında 25 sığır çiftliğinde yapılan taramada bu etkene yaygın olarak rastlanmıştır. Morfolojisi incelendiğinde, omurgalı konak eritrositleri içerisindeki pirop plazmaların genel olarak tipik tek veya çift armut formunda olduğu ve eritrositin merkezinde yerleşim gösterdiği, ortalama  $2,6-2,9 \times 1,2-1,7 \mu\text{m}$  boyutlarında olduğu, paraziteminin düşük olduğu durumlarda ise tek armut formlarının daha yaygın olduğu bildirilmiştir. Vektör kenenin hemolenfindeki merozoitlerin boyutu ise ortalama  $1,66 \times 2,57 \mu\text{m}$  olarak ölçülmüştür. Merozoitlerin bu boyutları ile *B. bigemina* ile *B. bovis*'in arasında,

*B. major*'e yakın ve *B. divergens*'ten büyük olduğu görülmektedir. Morfolojik olarak diğer türlerden ciddi bir ayrımı olmasa da seroloji ve patojenite anlamında çok farklı olduğu tespit edilmiştir. Düşük bir patojeniteye sahip *B. occultans* enfeksiyonlarında sağlıklı, dalağı alınmış veya kortikosteroid uygulanarak beğışıklık sistemi baskılanmış hayvanlarda neredeyse hiç bir klinik belirtiyeye rastlanmamıştır (Gray ve De Vos, 1981).

İlerleyen zamanlarda Nijerya, Tunus, İspanya ve İtalya'dan da *B. occultans* bildirimleri olmuştur. Nijerya'da yapılan çalışmada *H. rufipes*, *H. truncatum*, *H. impressum*, *H. marginatum* ve *H. impeltatum* türü kenelerin hemolenflerinden hazırlanan preparatlarda *Babesia* kinetleri tespit edilmiş ve bunların morfolojik incelemesinde *B. occultans* olabileceği düşünülmüştür (Dipeolu ve Amoo, 1984). Kuzey Afrika'da bulunan Tunus'daki moleküler biyolojik çalışmada (Ros-Garcia ve ark, 2011) ülkenin üç farklı biyoklimatik bölgesinden toplanan beslenmemiş *H. marginatum* türü kenelerde *B. occultans* DNA'sı tespit edilmiştir. Sonrasında 18S rRNA gen bölgesinin dizi analizi yapılarak tespit edilen türün *B. occultans* olduğu kesinlik kazanmıştır. Bu sonuçlarla *B. occultans*'ın önceden bildirildiği gibi yalnızca Sahara altı Afrika bölgesinde değil Akdeniz ve Asya bölgelerinde de yaygınlık göstermekte olabileceği düşünülmüştür (Ros-Garcia ve ark, 2011). İspanya'nın Minorka (Balear Adaları) bölgesinde, geçmişinde klinik piroplazmosis vakaları bulunan holştayn çiftliklerinde *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından bir tarama çalışması yürütülmüştür (Ros-Garcia ve ark, 2012). Yeni geliştirilmiş moleküler bir yöntem (multiplex DNA bead-based suspension array based on the Luminex® xMAP technology) kullanılarak yapılan bu tarama çalışmasında dört sığırdan *B. occultans* tespit edilmiş ve sekans analizi ile sonuçlar doğrulanmıştır (Ros-Garcia ve ark, 2012). İtalya'dan ise, Apula bölgesindeki bir sığır sürüsünde şiddetli kene enfestasyonu sonrasında gelen ve *B. occultans*'ın sorumlu tutulduğu bir klinik piroplazmosis salgını bildirilmiştir (Decaro ve ark, 2013). Laktasyon dönemindeki hayvanlarda görülen klinik bulgular; ağız ve genital mukozada belirgin bir anemik görüntü, 40,8°C'nin üzerindeki yüksek ateş ve süt veriminde azalmadır. Hayvanlardan elde edilen izolatın 18S rRNA gen bölgesinin sekans analizi sonucu etkenlerin % 97-100 oranında *B. occultans*'a identik olduğu ispatlanmıştır (Decaro ve ark, 2013). Ayrıca diğer patojenlerin dahil olduğu bir ortak-enfeksiyon kanıtı bulunmamaktadır. Enfekte hayvanlara imidokarb dipropionat uygulanmış ve tedaviden pozitif sonuç alınmıştır. Bu çalışma (Decaro ve ark, 2013) ile daha önceden düşük patojeniteli ve klinik belirtiyeye sebep olmadığı kabul edilen *B. occultans*'ın patojen olabileceği ve klinik hastalık tablosu oluşturabileceği anlaşılmıştır. Türkiye'de de Karadeniz Bölgesi'nde yapılan bir çalışma kapsamında RLB yöntemi ile *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından

taranan 100 adet sağlıklı görünümdeki sığırın üçünde *B. occultans* tespit edildiği bildirilmiştir (Aktaş ve Özübek, 2015).

#### **2.3.2.7. *Babesia jakimovi* (Nikolskii ve ark, 1977)**

İlk kez Rusya'nın Sibirya bölgesinden Nikolskii ve ark (1977) tarafından bildirilmiş olan *B. jakimovi* sığır, karaca, Asya geyiği ve ren geyiğinde parazitlenmekte ve naklinde *Ixodes ricinus* rol oynamaktadır (Taylor ve ark, 2007). Büyük *Babesia* türlerinden olduğu kabul edilen *B. jakimovi*'nin omurgalı konak eritrositleri içerisindeki piroplazmalarının yuvarlak, tek veya çift armut formlarında ve ortalama 4,5 x 2-2,5 µm boyutlarında olduğu bildirilmiştir (Purnell, 1981). Bununla birlikte Taylor ve ark (2007) parazitin boyutlarını 2,6 x 1,5 µm olarak kaydetmişlerdir. Patojenitesi yüksek olan *B. jakimovi* sığırlarda genellikle ölümle sonuçlanabilen şiddetli enfeksiyonlara sebep olabilmektedir (Russel ve ark, 2013). Tüm bunların yanında; Uilenberg (1995), çeşitli moleküler markerlar kullanılarak yapılacak karşılaştırma çalışmaları ile *B. jakimovi*'nin diğer türlerle olan ilişkisinin belirlenmesi gerektiğini söylemekte, aynı yazar bir başka makalesinde (Uilenberg, 2006) ise *B. jakimovi*'nin kabul görmüş bir tür olmadığından bahsetmektedir. Benzer şekilde Torres ve ark (2017) da *B. jakimovi*'nin, geyikgillerde parazitlenen ve *Ixodes* türleri tarafından nakledilen diğer *Babesia* türleri ile karşılaştırılarak geçerliliğinin ortaya konması gerektiğini belirtmişlerdir.

#### **2.3.2.8. *Babesia beliceri* (Abramov ve Djakonov, 1974)**

Üzerinde tartışmaların devam ettiği ve yeni bir tür olup olmadığı henüz kesinlik kazanmamış olan türlerden biri de *B. beliceri*'dir. Zwart (1985), *B. beliceri*'nin ayrı bir tür olarak ilk kez Krylov (1981) tarafından tanındığını ve kabul gördüğünü yazmaktadır. Uilenberg (1995), bu türün ilk keşfini Abramov ve Djakonov (1974)'a atfetmekle beraber, aynı *B. jakimovi*'de olduğu gibi çeşitli moleküler markerlar kullanılarak yapılacak karşılaştırma çalışmaları ile *B. beliceri*'nin de diğer türlerle olan ilişkisinin belirlenmesi gerektiğinden bahsetmektedir. Bu türün Rusya'da sığırlarda görüldüğü de yine aynı makalede verilmiştir. Bir başka makalesinde Uilenberg (2006), *B. beliceri*'nin yeni bir tür olarak kabul görmediğini söylemektedir. Bir diğer makalede (Böse ve ark, 1995) *B. beliceri*,

*B. occultans*'ın sinonimi olarak kabul edilmektedir. Çin'de yapılan bir çalışmada (Luo ve ark, 2002); *H. anatolicum* nimfleri ile nakledildiğini ve düşük virulansa sahip olmasına rağmen dalağı çıkarılmış buzağılarda hastalığa sebep olduğunu saptadıkları iki *Babesia* türünden bahsedilmektedir. Morfolojik olarak da incelenen bu iki türün *B. occultans* ve *B. beliceri* olabileceği ancak kesin bir iddiada bulunmadan önce immunolojik, biyokimyasal ve 18S rRNA temelli moleküler çalışmaların yapılması gerektiğinden bahsedilmiştir. Bahsi geçen çalışmada (Luo ve ark, 2002), *B. beliceri*'nin omurgalı konak eritrositleri içerisindeki piroplazmalarının ortalama 2,78 x 1,6 µm olduğu söylenmektedir.

### 2.3.3. Koyun ve Keçilerde Parazitlenen *Theileria* Türleri

Sığırlarda olduğu gibi koyun ve keçilerde de Dünya'nın çeşitli bölgelerinde morfoloji, biyoloji ve patojenite gibi özellikleri bakımından farklılıklar gösteren ve hastalık tablolarına sebep olan *Theileria* türleri parazitlenmektedir. Uzun yıllar boyunca geleneksel olarak morfolojik özellikler, yaşam döngüsü karakteristikleri, vektör kene türleri, coğrafi yayılış gibi parametreler çerçevesinde türler belirlenmiş ve sınıflandırma yapılmıştır. Moleküler filogenetik analiz yöntemlerinin geliştirilmesi ile SSU rRNA gen dizilerinin analiz edilebilmesi mevcut türler arasındaki kesin ayrımların yapılabilmesine ve yeni türlerin keşfine olanak sağlamıştır (Allsopp ve ark, 1993; Sparagano ve ark, 2006; Altay ve ark, 2008a; Mans ve ark, 2015).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar ışığında koyun ve keçilerde parazitlendiği bilinen *Theileria* türleri; *T. ovis*, *T. lestoquardi* (= *T. hirci*), *T. recondita*, *T. separata*, *T. luwenshuni* (= *T. sp. China 1*), *T. uilenbergi* (= *T. sp. China 2*), *T. sp. OT1*, *T. sp. OT3* ve *T. sp. MK* şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Bu türlerden; *T. luwenshuni*, *T. uilenbergi* ve *T. lestoquardi* patojen, *T. ovis*, *T. recondita*, *T. separata* apatojen veya az patojen olarak bilinirken *T. sp. OT1*, *T. sp. OT3* ve *T. sp. MK*'nin patojeniteleri hakkında henüz yeterli bilgi bulunmamaktadır (Preston, 2001; Schnittger ve ark, 2003; 2004; Nagore ve ark, 2004; Altay ve ark, 2007c; Yin ve ark, 2007; Mans ve ark, 2015).

### 2.3.3.1. *Theileria lestoquardi* Morel ve Uilenberg, 1981

İlk kez 1914'de Mısır'da iki adet Sudan koyununda görülmüş olduğundan bahsedilmektedir (El Imam ve Taha, 2015). *T. lestoquardi* Kuzey ve Doğu Afrika, Güney Avrupa, eski SSCB, Rusya ile Orta Doğu'yu tamamen içine alan Akdeniz'den Hindistan ve Çine kadar olan bir coğrafyada yayılış göstermekte ve koyun ve keçilerin kötü huylu theileriosis etkeni olarak bilinmektedir. *T. lestoquardi*'nin geçmişte *Gonderia hirci*, *T. ovis* ve *T. hirci* gibi sinonim isimleri olmuştur. Etkenin naklinden sorumlu keneler; *H. anatolicum* ve *R. bursa* olarak bilinmektedir (Levine, 1985; Luo ve Yin, 1996; Preston, 2001; Taylor ve ark, 2007; Jalali ve ark, 2014). Ayrıca yapılan çalışmalarla yeni bildirimler bulunmaktadır. Bu çalışmalarda da; *H. excavatum* (Hashemi-Fesharki, 1997), *H. impeltatum* (El-Azazy ve ark, 2001), *R. sanguineus* (Razmi ve ark, 2003), *H. anatolicum* (Taha ve El Hussein, 2010; Abdigoudarzi, 2013), *H. scupense (=detrutum)* (Abdigoudarzi, 2013) ve *R. turanicus* (Abdigoudarzi, 2013) türlerinin de vektörlük yapabildikleri ifade edilmektedir. Bunların yanında Zakian ve ark (2014), *T. lestoquardi*'nin vertikal olarak da bulaştığından bahsetmektedirler.

Omurgalı konak eritrositleri içerisindeki piroplazmik formları % 80 oranında yuvarlak ya da oval, % 18 oranında çubuk şeklinde görülürken, % 2'lik bir kısım da anaplasmod formdadır. Morfolojik olarak incelendiği zaman; yuvarlak formlar ortalama 0,6-2 µm çapında iken çubuk formları da yaklaşık 1,6 µm uzunluktadır. Eritrosit içerisinde ikili veya dörtlü olarak yerleşim göstermektedirler. Lenfositleri enfekte eden sporozoitlerin şekillendirdiği şizontların (Koch cisimcikleri) ortalama çapı 8 µm (10-20 µm) olup, içlerinde 1-2 µm çapında ve sayıları 80'e kadar varabilen kırmızı-mor granüller içermektedirler (Levine, 1985; Kaufmann, 1996; Taylor ve ark, 2007).

Koyun ve keçi popülasyonlarında çok ciddi kayıplara sebep olan *T. lestoquardi* yüksek patojeniteye sahip olup, erişkin koyun ve keçilerde % 46-100 oranlarında ölümle sonuçlanabilen akut theileriosisten sorumludur. Genç hayvanlarda anneden gelen bağışıklık sayesinde hafif seyirlidir. Hastalığın yaygın olarak akut formuyla karşılaşılsa da subakut ve kronik tablolar da gözlenmiştir (Levine, 1985; Taylor ve ark, 2007). Akut theileriosiste klinik olarak; yüksek ateş (40-41,7°C), iştahsızlık, geviş getirmenin durması, kalp atım sayısında artış, zayıflık, yüzeysel lenf yumrularında ve göz kapaklarında şişlik, kanlı veya mukuslu olabilen ishal, mukoza altı, seroza altı ve deri altı dokularda sarılık ve kanamalar görülebilmektedir. Enekte hayvanlar çok zayıf ve genellikle ölmek üzeredirler. Kronik formda ise dalgalı ateş, iştahsızlık, zayıflık, sarılık ve anemi tablosu gözlemlenebilmektedir.

Hastalığa bağlı patolojik bulgular; lenf yumrularında sürekli ve karaciğerde genellikle büyüme (şişlik), dalağın belirgin biçimde genişlemesi ve akciğerlerin ödemli olmasıdır. Böbreklerde enfarktüs, abomasum mukozasında peteşiler, bağırsak mukozasında düzensiz ve yaygın yama benzeri lezyonlar görülebilir. Hastalığı atlatan hayvanlarda preminasyon şekillendiği ve *T. ovis* ile çapraz bir bağışıklık şekillenmediği belirtilmiştir (Levine, 1985; Taylor ve ark, 2007).

Morfolojik (Brown ve ark, 1998), serolojik (Lemans ve ark, 1999), ortak vektör ve immunojenik makroşizont proteinleri (Namawari ve ark, 2008) ve coğrafi yayılışları (Taha ve ark, 2013) bakımından *T. lestoquardi* ile *T. annulata* arasında benzerlikler bulunmaktadır. Ayrıca filogenetik olarak da bu iki tür koyun, keçi ve sığırlarda parazitlenen diğer *Theileria* ve *Babesia* türlerine oranla daha yakın bir akrabalık ilişkisine sahiptir (Schnittger ve ark, 2000a; 2003; Sparagano ve ark, 2006). Her iki etken de kendi omurgalı konaklarında lenfoproliferatif ve/veya miyeloproliferatif karakterdeki hastalığa sebep olmaktadır ve en azından bir ortak vektöre (*H. anatolicum*) sahiptirler. Bu nedenle bazı coğrafi bölgelerde her iki parazite ait ortak bildirimler bulunmaktadır (Leemans ve ark, 1999). Ayrıca antijenik olarak yakından alakalı oldukları düşünülmektedir. Serolojik bir yöntem olan IFAT'da *T. lestoquardi*'nin, *T. annulata* ve *T. parva* ile anlamlı düzeyde çapraz reaksiyon verdiği gözlenmiştir (Leemans ve ark, 1997). Çapraz enfeksiyon oluşturabilme potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada (Brown ve ark, 1998) sığırların *T. lestoquardi* ile enfekte olmadığı, koyun ve keçilerin ise *T. annulata* ile enfekte olduğu fakat eritrositer formların şekillenmediği görülmüştür. Aynı çalışmada (Brown ve ark, 1998) her iki tür için ortak vektör olan *H. anatolicum*'da hem *T. lestoquardi* hem de *T. annulata*'nın DNA'larının PCR ile tespit edildiği bildirilmiştir. Yine bir başka *in vitro* ve *in vivo* deneysel enfeksiyon çalışmasında (Leemans ve ark, 1999) *T. lestoquardi*'nin sığırdaki enfeksiyon oluşturamamasına karşın, koyunlarda *T. annulata* enfeksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bir diğer moleküler tanı yöntemi olan RLB'nin kullanıldığı çalışmalarda da bu iki tür arasında çapraz reaksiyon şekillendiği bildirilmektedir. *T. lestoquardi*'ye özgü probun *T. annulata* ile çapraz reaksiyon verdiği görülmüştür (Nagore ve ark, 2004; Altay ve ark, 2007b). Bu iki türün genetik yakınlıkları da incelenmiş ve 18S SSU rRNA aşırı değişken (hyper-variable) gen bölgesinde iki baz çiftlik bir farklılık olduğu belirlenmiştir (Mans ve ark, 2011). Bir diğer RLB çalışmasında (El Imam ve Taha, 2015) da aynı şekilde *T. lestoquardi* ve *T. annulata* arasında % 100 oranında bir çapraz reaksiyon şekillenmiştir. Araştırmacılar (El Imam ve Taha, 2015) bu iki türün ortak atadan evrilmiş olabileceği kararına vardıklarını bildirmişlerdir.

Türkiye’de keçilerde *T. lestoquardi* (= *T. hirci*) varlığının bildirildiği bir çalışma (Hoffmann ve ark, 1971) ile karşılaşılmaktadır. Ancak, serolojik ve moleküler yöntemler ile Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin araştırıldığı çalışmalar bulunmasına karşın herhangi bir *T. lestoquardi* bildiriminde bulunulmamıştır (İnci ve ark, 2003; 2010; Altay ve ark, 2007b; Sayın ve ark, 2009; Altay ve ark, 2012; Aydın ve ark, 2013; Bilgiç ve ark, 2017a).

### 2.3.3.2. *Theileria ovis* Rodhain, 1916

İyi huylu koyun ve keçi theileriosis etkeni olarak kabul edilen *T. ovis* zaman içerisinde; *T. recondita*, *T. sergenti*, *T. musimoni*, *B. sergenti*, *Gonderia ovis*, *G. hirci* ve *Haematoxenus separatus* gibi sinonim isimlerle anılmıştır (Morel ve Uilenberg, 1981; Levine, 1985). Türkiye de dahil olmak üzere Afrika, Batı Asya, Avrupa, eski SSCB, Rusya, Hindistan, Sri Lanka, Senegal, Suudi Arabistan, Yunanistan, Irak, İsrail gibi dünyanın pek çok bölgesinde yaygın olarak görülmektedir (Levine, 1985; Hussein ve ark, 1991; Pipano, 1991; Dass, 1993; Papadopoulos ve ark, 1996; Altay ve ark, 2007a-b-c; Renneker ve ark, 2013).

Evcil koyun ve keçinin haricinde, deneysel olarak dalağı çıkarılmış yabani koyun ve alageyikte de enfeksiyon şekillendirilmiştir (Levine, 1985). Bu hayvanların yanı sıra İran’da yapılan yeni bir çalışma (Gholami ve ark, 2016) sonuçları *T. ovis*’in çoban köpeklerinde de parazitlenebileceğini göstermiştir. Yukarıda *T. buffeli* anlatılırken de bahsi geçen çalışma (Gholami ve ark, 2016) kapsamında İran’da 23 çoban köpeğinin 3 tanesinde hem mikroskopik hem de moleküler (PCR) olarak *Theileria* türleri ile karşılaşılmıştır. Yapılan 18S rRNA gen bölgesi dizi analizi sonuçlarında bu izolatlarda *T. buffeli*, *T. luwenshuni* ve *T. ovis* tespit edilmiştir (Gholami ve ark, 2016). Belirlenen *T. ovis* izolatında yeni bir haplotip şekillenmediği görülmüştür (Gholami ve ark, 2016). Ayrıca Nagore ve ark (2004), kendilerine ait yayınlanmamış bir çalışmanın sonuçlarına atfen, *T. ovis*’in RLB yöntemi ile sığırlarda da tespit edilebileceğinden bahsetmişlerdir. Bu sonuçların, etkenlerin son konakları ve hastalık epidemiyolojisi ile ilgili yeni çalışmaları gerekli kıldığı düşünülmektedir.

Güney Afrika’da *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Ornithodoros* cinslerindeki bazı türler, Akdeniz havzasında *R. bursa*, ayrıca Afrika’da *R. evertsi*, *T. ovis*’in bugüne kadar tespit edilebilen vektörleri olarak karşımıza çıkmaktadır (Neitz, 1956; Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; Taylor ve ark, 2007).

Son konaktaki gelişimi ve morfolojisi bakımından *T. lestoquardi*'ye benzerlik göstermekte, patojenite ve mortalitesi düşük olmasına rağmen endemik bölgelerdeki prevalansı oldukça yüksek olabilmektedir. Eritrositer formları morfolojik görünüm olarak *T. lestoquardi*'ye benzemekte olup, oval formları 0,6-2 µm çapında, çubuk formları ortalama 1,6 µm uzunluktadır. Bu tür ile enfekte ve bağışıklık sistemi normal olan (dalağı alınmamış) hayvanlarda Koch cisimcikleri (şizontlar) genellikle zor görülmekte ve eritrositlerin enfeksiyon oranı çoğunlukla % 2'nin altında olduğu için daha seyrek görülmektedir (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Kaufmann, 1996; Taylor ve ark, 2007). *T. ovis*'e bağlı enfeksiyonlar çoğunlukla hafif seyirli ve klinik belirtisiz seyretmektedirler. *T. ovis* enfeksiyonu ile ilişkili patolojik bulgu görülmemektedir. Tanı amacıyla hazırlanan kan frotilerindeki eritrositer formlara bakarak *T. lestoquardi*'den ayırt edilemese de, parazit varlığının azlığı ve patojenite eksikliği ayırım yapabilmeye yardımcı olabilmektedir (Taylor ve ark, 2007).

### **2.3.3.3. *Theileria luwenshuni* ve *T. uilenbergi***

Bir dönem, ölümcül olabilen şiddetli koyun ve keçi theileriosisinden yalnızca *T. lestoquardi* sorumlu tutulurken sonradan karşılaşılan bazı vakalarda *T. lestoquardi* dışında iki patojen *Theileria* türü daha tespit edilmiştir. Çin'de bulunan bu iki izolatin tüm 18S SSU rRNA gen dizi analizleri diğer *Theileria* ve *Babesia* türleri ile karşılaştırılmıştır. Bunların biri genetik olarak kötü huylu *T. buffeli* ve *T. sergenti* ile diğeri ise *T. mutans* ile yakın, fakat *T. lestoquardi* ile uzak bir akrabalık ilişkisi içinde olan ve henüz tanımlanmamış iki yeni tür oldukları düşünülmüştür. Koyun ve keçiler için patojen olduğu gözlenen bu iki yeni tür ilk etapta *T. sp. China 1* ve *T. sp. China 2* olarak tanımlanmıştır (Schnittger ve ark, 2000a; 2003; Yin ve ark, 2004; Ahmed ve ark, 2006). Daha sonra bu iki tür sırasıyla *T. luwenshuni* ve *T. uilenbergi* olarak isimlendirilmişlerdir. Çin'den bildirilen bu iki yeni patojen tür, küçük ruminantlarda lenfoproliferatif karakterde ve yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahip şiddetli enfeksiyona sebep olmaktadır (Yin ve ark, 2007; 2008). Vektör olarak *Haemaphysalis qinghaiensis*'in nimf ve erişkinlerinin hem *T. luwenshuni* hem de *T. uilenbergi*'yi koyun ve keçilere nakledebildiği belirtilmiştir. Ayrıca *T. luwenshuni*'ye *Hae. longicornis*'in de vektörlük yapabildiği bildirilmiştir (Yin ve ark, 2002a-b; Li ve ark, 2007; Yin ve Luo, 2007; Li ve ark, 2009). *T. lestoquardi*'ye keçilerin koyunlara oranla daha dirençli olduğunun bilinmesine karşın, *T. luwenshuni* ve *T. uilenbergi*



enfeksiyonlarına karşı duyarlılık konusunda koyun ve keçiler arasında herhangi bir farklılık gözlenmediğinden de bahsedilmektedir (Yin ve ark, 2007; Liu ve ark, 2008). Türkiye’den de bu iki türün tespit edildiğine dair bildirimler bulunmaktadır (Bilgiç ve ark, 2017a).

Koyun ve keçilerin yanı sıra benekli geyik (sika geyiği) ve alageyiğin de *T. luwenshuni* ve *T. uilenbergi* için omurgalı konaklar arasında yer aldığı belirtilmiştir (Mans ve ark, 2015). Ayrıca İran’dan yapılan bir bildirim *T. luwenshuni*’nin çoban köpeklerinde de parazitlenebileceğini göstermiştir. *T. buffeli* ve *T. ovis* anlatılırken bahsi geçen bir çalışmanın (Gholami ve ark, 2016) sonuçlarına göre İran’da 23 çoban köpeğinin üç tanesinde hem mikroskopik hem de moleküler (PCR) olarak *Theileria* türleri ile karşılaşmıştır. Yapılan 18S rRNA gen bölgesi dizi analizi sonuçlarında bu izolatlarda *T. buffeli*, *T. luwenshuni* ve *T. ovis* tespit edilmiştir (Gholami ve ark, 2016).

#### **2.3.3.4. *Theileria separata* Uilenberg ve Andreasen, 1974**

İlk kez Uilenberg ve Andreasen (1974) tarafından Tanzanya’da *Haematoxenus separatus* ismiyle koyunların apatojen bir kan paraziti olarak tanımlanmış, sonradan adı *T. separata* olarak değiştirilmiştir (Norval ve ark, 1992). Koyun ve keçilerin apatojen *Theileria* etkenlerinden olan *T. separata*’nın Doğu ve Güney Afrika’da yayılış gösterdiği ve *R. evertsi*’nin vektörlük yaptığı bilinmektedir (Uilenberg ve Schreuder, 1976; Taylor ve ark, 2007). Bunun yanı sıra, Bishop ve ark (2008), *T. separata*’nın Asya’da görüldüğü ve bazı *Hyalomma* türlerinin vektörlük yapabildiğini de yazmaktadırlar. Etkenin piroplazm formlarının bazılarında gözlenebilen veil’in (oval, perde benzeri yapı) morfolojisi yardımıyla *T. ovis*’den ayırt edilebileceği bildirilmiştir. *T. separata*’da veil eritrositin çeperinde ve bu çeperi içe doğru eğmiş bir görünümde (Young ve Mchinja, 1977; Norval ve ark, 1992). *Theileria* ve *Babesia* türlerinin filogenetik ilişkilerinin araştırıldığı bir çalışmanın (Schnittger ve ark, 2003) sonuçları, bazı antilop türlerinde parazitlendiği bilinen ve *T. sp. (sable)* olarak isimlendirilen bir *Theileria* türü ile *T. separata*’nın yakın bir genetik ilişki içerisinde olduklarını ortaya koymuştur. Güney Afrika’da antiloplarda parazitlenen *Theileria* türleri üzerinde yürütülen bir başka çalışmanın sonuçları da bunu desteklemiştir (Nijhof ve ark, 2005). Bu sonuçlarla birlikte, *T. sp. (sable)*’ın vektörünün henüz bilinmemesine karşın, eğer aynı kene türü ile taşındığı tespit edilirse, bunun, *T. separata*’nın vahşi antiloplardan koyunlara bulaştırıldığı hipotezini güçlendireceği düşünülmektedir

(Schnittger ve ark, 2003; Yin ve ark, 2007). Türkiye’de *T. separata*’nın varlığı moleküler olarak, Bilgiç ve ark (2017a) tarafından gösterilmiştir.

### **2.3.3.5. *Theileria recondita***

Koyun, keçi ve geyikgillerde parazitlenmekte olan *T. recondita* Batı Avrupa’da Almanya ve Birleşik Krallık’da görülen ve *Hae. punctata*’nın vektörlük yaptığı apatojen bir türdür (Uilenberg, 1981; Taylor ve ark, 2016). Omurgalı konak eritrositleri içerisindeki merozoitlerinin nispeten küçük ve ağırlıklı olarak çomak (ortalama 2,09 µm uzunlukta) veya halka (ortalama 1,22 µm çapında) formlarında görüldüğü bildirilmektedir (Alani ve Herbert, 1988a). Dalağı çıkarılmış koyunlarda dokuz gün veya daha uzun süren bir patent enfeksiyon süresince yüksek ateş ve şiddetli bir makrositik hipokromik anemi gözlenmiştir. Prepatent sürenin sekiz gün kadar olduğu bildirilmiştir. Buna karşın dalağı çıkarılmamış sağlıklı hayvanlarda, düşük parazitemi ile seyreden yedi günlük periyotta, geçici bir makrositik hipokromik anemi ve hafif ateş görüldüğü bildirilmiştir (Alani ve Herbert, 1988b).

### **2.3.3.6. *Theileria* sp. MK**

Türkiye’de koyun ve keçilerde görülen *Theileria* ve *Babesia* türleri üzerine yapılan bir çalışmada (Altay ve ark, 2007c) karşılaşılan üç *Theileria* genotipinden birinin 18S rRNA gen bölgesi dizi analiz sonuçları bilinen diğer tüm *Theileria* ve *Babesia* türlerinden filogenetik olarak farklılık göstermiş ve *Theileria* sp. MK olarak isimlendirilmiştir. Koyun ve keçilerde tespit edildiği için küçük gevişenlerin bir paraziti olarak kabul edilmiştir (Altay ve ark, 2007c). Tespit edilen parazitin 18S rRNA gen sekans sonuçları incelenmiş ve küçük gevişenler için patojen *Theileria* türlerinden olan *T. sp. China 1 (T. luwenshuni)*’den (% 96,1 benzerlik) ve *T. lestoquardi*’den (% 93,4 benzerlik) dikkate değer oranda farklı olduğu bildirilmiştir (Altay ve ark, 2007c). *T. sp. MK*’nın patojenitesi hakkında yeterli bilgi bulunmamakla birlikte sağlıklı görünen hayvanlarda tespit edilmiş olmasından dolayı patojen olmadığı düşünülmektedir. Bunun yanında; incelenen sürme kan frotilerindeki parazitemi oranının *T. sp. MK* için, *T. ovis* ve *T. sp OT3*’e göre yüksek bulunması ilginç bir bulgu olarak değerlendirilmiştir (Altay ve ark, 2007c). Vektörü hakkında her hangi bir bilgi

bulunmamaktadır (Altay ve ark, 2007c; Altay ve ark, 2008a). İlk tespitinden sonra *T. sp. MK*'nin varlığıyla ilgili Türkiye'de yapılan çeşitli çalışmalardan da bildirimler olmuştur (Altay ve ark, 2012; Aydın ve ark, 2013; Bilgiç ve ark, 2017a).

### **2.3.3.7. *Theileria sp. OT1* ve *Theileria sp. OT3***

Bu iki tür, Kuzey İspanya Bask bölgesinde koyun ve keçiler üzerinde yürütülen bir çalışma sonucu ortaya konmuştur. Çalışmada karşılaşılan parazitlerin genom dizi analizleri sonucu üç *Theileria* genotipi tespit edilmiştir. Türlerden birinin *T. ovis* olduğu görülmüştür. Diğer iki genotipten biri, daha önceden tespit edilmiş patojen bir *Theileria* türü olan *T. sp. China 1* (*T. luwenshuni*) ile % 99,6 oranında benzerlik göstermiş ve *T. sp. OT1* olarak isimlendirilmiştir. İkili karşılaştırma sonucunda 18S rRNA sekanlarında *T. sp. China 1* ile *T. sp. OT1* arasında yalnızca yedi nükleotidlik bir fark bulunduğundan, aynı taksonun iki farklı suşu olarak değerlendirilmişlerdir. *T. luwenshuni*'nin aksine *T. sp. OT1*'in nispeten daha düşük patojeniteye sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışmada (Nagore ve ark, 2004) tespit edilen üçüncü genotip ise; genetik olarak kendisine en yakın tür olan *T. sp. Cervus nippon* (sika geyiğinden izole edilmiş ve tanımlanmış bir tür) ile % 97,9'luk (40 nükleotitlik fark) bir benzerlik göstermiş ve *T. sp. OT3* olarak isimlendirilmiştir. Bu iki türün patojeniteleri hakkında kesin ve ayrıntılı bilgi bulunmamaktadır. Ancak yapılan çalışmada (Nagore ve ark, 2004) bu türler ile enfekte bulunan, özellikle de iki türün birlikte bulunduğu hayvanlarda düşükler olduğu gözlenmiş ve bu bulgular dikkate değer bulunmuştur. Bu durumun iki tür arasındaki sinerjik bir mekanizma ile açıklanabileceği düşünülmüştür. *T. sp. OT1*, her ne kadar yüksek bir yayılış oranına sahip olmasına rağmen çoğunlukla asemptomatik enfeksiyon şeklinde seyretmektedir. Bunun yanında, ciddi bir patojen olan ve genellikle diğer türlerle birlikte miks olarak karşılaşılan *T. luwenshuni* ile yakın bir genetiğe sahip olmasının da, hayvanlardaki düşüklerde etki sahibi olabileceği düşünülmüştür. Tüm bunların yanı sıra; bu türlerin küçük ruminantlarda parazitlendiği bilinmesine karşın, aynı araştırmacılar (Nagore ve ark, 2004) yayınlanmamış bir çalışmalarında *T. sp. OT1*'in RLB yöntemi ile sığırlarda da tespit edildiğinden bahsetmektedirler. *T. sp. OT1* ve *T. sp. OT3*'ün Türkiye'de de tespit edildiği bildirimleri bulunmaktadır (Altay ve ark, 2007c; 2012; Aydın ve ark, 2013; Bilgiç ve ark, 2017a).

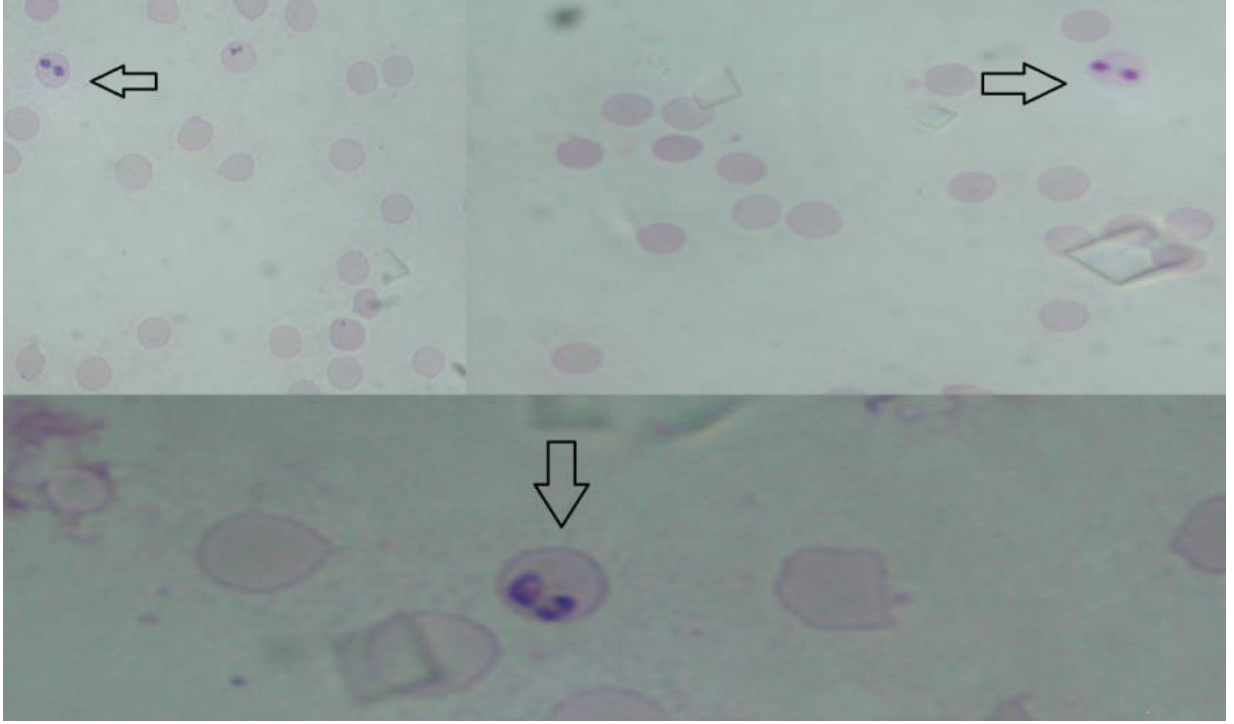
### 2.3.4. Koyun ve Keçilerde Parazitlenen *Babesia* Türleri

Küçük ruminant yetiştiriciliğinin önemli sorunlarından biri olarak karşımıza çıkan babesiosis, Dünya'nın pek çok bölgesinde, özellikle de tropik ve subtropik iklim kuşağında yer alan bölgelerde görülen ciddi bir salgın hastalıktır. Hastalığın etiolojisinde günümüze kadar koyun ve keçilerde parazitlendiği tespit edilebilmiş yedi *Babesia* türü rol oynamaktadır. Bu türler; *B. ovis*, *B. motasi*, *B. crassa*, *B. foliata*, *B. taylori* ve Çin'de tespit edilen yeni türler *B. sp. Xinjiang* ve *B. sp. BQ1*'dir. Ayrıca *Babesia sp. BQ1*'in Lintan ve Ningxian suşlarından bahsedilmektedir (Sarwar, 1935; Ray ve Raghavachari, 1941; Levine, 1985; Hashemi-Fesharki, 1997; Hashemi-Fesharki ve Uilenberg, 1981; Bai ve ark, 2002c; Liu ve ark, 2007; Guan ve ark, 2009). Bu türlerden *B. ovis* yüksek seviyede patojen iken, *B. crassa* ve *B. sp. Xinjiang* apatojen veya düşük patojeniteli türlerdendir. *B. motasi*'nin Kuzey Avrupa'da koyunlar için patojen olmadığı fakat Hindistan ve Kuzey Afrika'da muhtemelen *B. ovis*'den daha patojen olabildiğinden bahsedilmektedir (Friedhoff, 1997; Uilenberg, 2001; Guan ve ark, 2009). Uilenberg (2006), *B. taylori* ve *B. foliata*'nın geçerliliğinin şüpheli olduğundan bahsetmektedir. Ayrıca *B. motasi* ve *B. crassa* büyük türlerden iken *B. ovis*, *B. taylori* ve *B. foliata*'nın küçük *Babesia* türlerinden olduğu kabul edilmektedir (Liu ve ark, 2007).

#### 2.3.4.1. *Babesia ovis* (Babes, 1892) Starcovici, 1893

Hem evcil hem de yabani koyun ve evcil keçilerde parazitlenebilen *B. ovis*'in bazı sinonimleri; *Amoebosporidium polyphagum*, *Haematococcus ovis*, *Piroplasma ovis*, *P. hirci*, *B. hirci*, *Babesiella ovis*, *Francaiella ovis* ve *Microbabesia ovis*'dir (Levine, 1985). Dalağı çıkarılmış alageyiklerin de hafif duyarlı olduğu bildirilmiştir (Enigk ve ark, 1964). Türkiye de dâhil olmak üzere Avrupa, eski SSCB, Yakın ve Orta Doğu, Orta Asya, tüm Amerika kıtası, Kuzey Batı ve Güney Afrika gibi Dünya'nın pek çok bölgesinde yaygın olarak görülmektedir (Friedhoff, 1988; Kaufmann, 1996; Rommel, 2000; Taylor ve ark, 2007; Bilgiç ve ark, 2017a).

Vektörleri; *R. bursa*, *R. turanicus*, *R. evertsi*, *I. persulcatus* ve *H. excavatum*'dur (Levine, 1985; Friedhoff, 1988; Kaufmann, 1996; Rommel, 2000). Bununla birlikte Taylor ve ark (2016), *D. reticulatus*, *I. persulcatus* ve *I. ricinus*'dan şüpheli vektörler olarak bahsetmektedir.



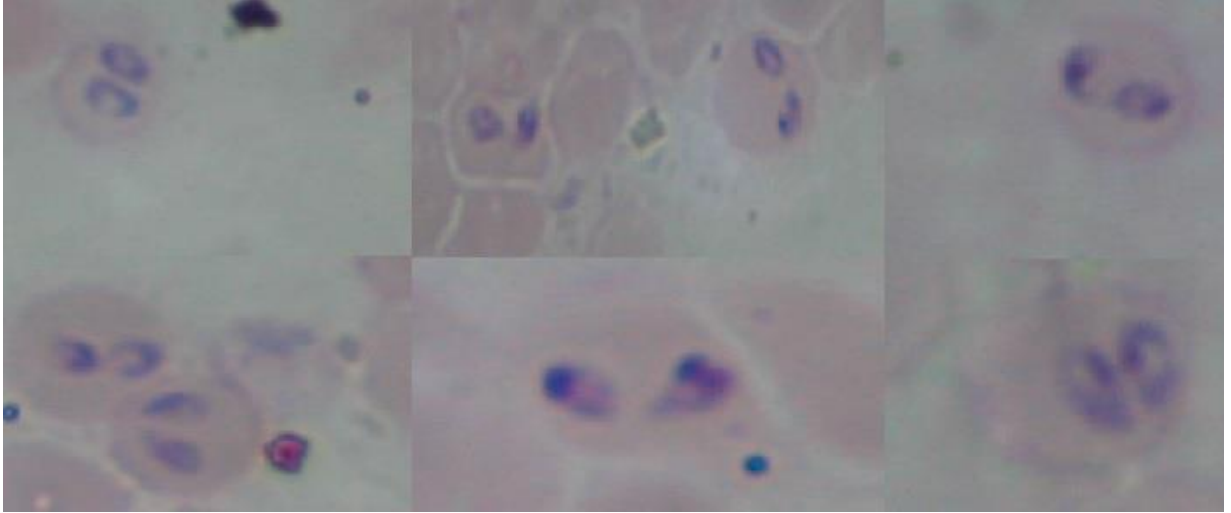
**Resim 7.** Giemsa ile boyalı kan frotisinde *B. ovis*'in piroplasmik formları (Orijinal)

Küçük *Babesia* türlerinden olup merozoitleri ortalama 1-2,5  $\mu\text{m}$  boyutlarında ve çoğunluğu yuvarlak formdadır. Oval, tek veya çift armut formları da gözlenebilmektedir. Genellikle konak eritrositlerinin çevresine yakın yerleşim gösterirler. Çift armut formunda olan merozoitler aralarında geniş açı oluşturacak şekilde bulunurlar (Levine, 1985; Taylor ve ark, 2016). Farklılaşmış merozoitlerde konoid, mikropor ve tipik mitokondri bulunmazken, belirgin tubül veya kristası olmayan mitokondri benzeri vezikül ve iki adet küresel cisimciğe sahiptirler. Bir tane ön ve bir tane de arka uça kutup halkası ve beş veya daha fazla sayıda roptri ihtiva ederler. Subpeliküler mikrotübül ise bulunmamaktadır (Friedhoff ve Scholtyseck, 1977). Parazitin vektör kene *R. bursa* içerisindeki kinetleri (vermikül); apikal koruyucu (apical umbrella), onun altında bir mikrotübüler taç, roptri ve mikronemlerden oluşan bir apikal kompleks yapısına sahiptirler. Tipik bir subpelikular mikrotübül veya konoid ise bulunmaz (Friedhoff ve Scholtyseck, 1968; Weber, 1980). Büyük merontlar erişkin *R. bursa*'nın tükürük bezi hücrelerinde şekillenir ve bunlar da iğ şeklindeki sporozoitleri şekillendirirler. Sporozoitler ortalama 2,1  $\mu\text{m}$  uzunluğunda ve 0,9  $\mu\text{m}$  genişliğindedirler. Genellikle ön uç ile çekirdek arasında yerleşmiş pelikuler kompleks, ön ve arka kutup halkası, roptriler, mikronemler, mitokondri benzeri veziküller ve küresel cisimcik bulunmaktadır (Friedhoff ve ark, 1972).

Oldukça patojen olan *B. ovis*'in genellikle yüksek ateş, anemi, ikterus ve hemoglobinuri ile karakterize şiddetli enfeksiyonlara sebep olabildiği, ancak Hindistan ve Kuzey Afrika'da *B. motasi*'nin *B. ovis*'den daha patojen olabileceği söylenmektedir (Friedhoff, 1997). Benzer şekilde Levine (1985) de, *B. ovis*'in *B. motasi*'den daha az patojen olduğunu, fakat ateş, anemi ve ikterusa sebep olabileceğini ve genellikle parazitemi oranının % 0,6'nın üzerine çıkmadığını yazmaktadır. *B. ovis* enfeksiyonlarında eğer ölüm gerçekleşirse, bu yalnızca eritrosit yıkımına bağlı anemi, ikterus ve hemoglobinuriden değil aynı zamanda enfekte hücre yığınlarının ve serbest parazitlerin tıkadığı kapillar damarlar nedeniyle gerçekleşen organ yetmezliğinden de kaynaklanmaktadır. Kapillar damarlarda meydana gelen tıkanıklık yüzünden damar endotel hücrelerinde tahribat ve sonrasında buna bağlı oksijensizlik, zehirli metabolik ürünlerin birikmesi, damarlarda incelmeye ve neticesinde eritrositlerin damar dışına çıkarak gözle görülür kanamaların şekillendiği gözlenmektedir. Ayrıca yerli ırkların daha dirençli olduğu söylenmektedir (Taylor ve ark, 2016).

#### **2.3.4.2. Babesia motasi Wenyon, 1926**

Güney Avrupa, Almanya, Hollanda, Galler, Orta Doğu, eski Sovyetler Birliği, Vietnam, Güneydoğu Asya ve Afrika'da koyun ve keçilerde parazitlenmekte olan *Babesia motasi*'nin, *Haematococcus ovis* ve *Piroplasma ovis* gibi sinonim isimleri de bulunmaktadır (Uilenberg ve ark, 1980; Lewis ve ark, 1981; Levine, 1985; Taylor ve ark, 2016). Evcil koyun ve keçiler dışında yabani koyun ile dalağı çıkarılmış alageyiklerde de enfeksiyon oluşturabildiği, buna karşın dalağı çıkarılmış buzağı, ceylan ve karacada enfeksiyon şekillenmediği bildirilmiştir (Enigk, 1964). Büyük *Babesia* etkenlerinden olan *B. motasi*'nin ortalama boyutları 2,5-4 x 2 µm civarındadır. Merozoitleri *B. bigemina*'ya benzemektedir ve çoğunlukla tek veya çift armut formunda ve çift armut formundaki merozoitler arasındaki açığı dardır (Uilenberg ve ark, 1980; Lewis ve ark, 1981; Levine, 1985). Etkenin naklinde rol oynayan vektör keneler; *Hae. punctata*, *Hae. parva*, *D. silvarum* ve *R. bursa* olarak bilinmektedir. *Hae. bispinosa*'nın da vektör olabileceği söylenmektedir (Levine, 1985; Taylor ve ark, 2016). Ayrıca yeni yapılan bir araştırma ile Macaristan'da *B. motasi*'nin, *Haemaphysalis concinna*'da moleküler olarak tespit edildiği bildirilmiştir (Hornok ve ark, 2015).



**Resim 8.** Giemsa ile boyalı kan frotisinde *B. motasi*'nin piroplazmik formları (Orijinal)

Hem akut hem de kronik *B. motasi* enfeksiyonları gözlenebilmektedir. Akut vakalarda ateş, halsizlik, belirgin anemi, hemoglobüri ve devamında ölüm şekillenebilirken, kronik vakalarda karakteristik bir bulguya rastlanmamaktadır. *B. motasi*'nin Avrupa'da karşılaşılan suşları ateş ve anemiyle karakterize hafif bir klinik yanıtı sebep olurken, ölümlü sonuçlanabilen vakalar nadiren görülmektedir. Buna karşılık Akdeniz havzasında bulunan suşları daha patojen olabilmekte ve bazı suşlar keçilere de nakledilebilmektedir. Fakat bunun her zaman geçerli ve tutarlı bir gözlem olmadığı da söylenmektedir (Friedhoff, 1997; Taylor ve ark, 2016). Benzer şekilde Uilenberg (2006) de, *B. motasi*'nin Kuzey Avrupa'da hafif, Güney Avrupa ve Akdeniz havzasında şiddetli enfeksiyonlara sebep olduğundan bahsetmektedir. Türkiye'de *B. motasi*'nin varlığı moleküler olarak ilk kez Bilgiç ve ark (2017a) tarafından ortaya konmuştur.

Nekropside dalak büyümüş, yumuşak kıvamlı, koyu kırmızı renktedir ve üzerindeki kanama odakları dikkat çekicidir. Karaciğer genişlemiş ve sarımsı kahve renkli bir görünüm almıştır. Safra kesesi şişmiş, içerisi incelmış kıvamlı ve koyu bir safra ile dolu durumdadır. Abomasum ve bağırsak mukozası ile deri altı, seroza altı ve kas içi bağ doku ödemli, ikterik ve kanama odakları ile doludur. Kanın kıvamı incelmış ve sulu, plazma kırmızıya boyalı gibidir (Taylor ve ark, 2016).

#### **2.3.4.3. *Babesia crassa* Hashemi-Fesharki ve Uilenberg, 1981**

İlk kez İran'da koyunlardan izole edilmiş, morfolojik ve serolojik olarak *B. ovis* ve *B. motasi*'den farklı bir tür olduğu ortaya konmuş ve *B. crassa* olarak isimlendirilmiştir (Hashemi-Fesharki ve Uilenberg, 1981; Friedhoff, 1988; Rommel, 2000). Ya tek seferde dörde bölünme veya iki kere ard arda ikiye bölünmenin bir sonucu olarak eritrositler içerisinde çoğunlukla dörtlü yapıda görülmektedir. İlk ikiye bölünme sonunda oval veya yuvarlak formların, ikinci ikiye bölünmede ise armut formların şekillendiği gözlenmiştir. İlk bölünme ile oluşan formların ortalama 2,5 µm, ikinci bölünme ile oluşan formların ise ortalama 2,2 µm boyutlarında olduğu bildirilmiştir. Bağışıklık sisteminde her hangi bir aksaklık bulunmayan koyunlarda ve dalağı çıkarılmış keçilerde apatojen olduğu, dalağı çıkarılmış koyunlarda ise öldürücü olmadığı belirtilmiştir. Dolayısıyla apatojen veya düşük bir patojeniteye sahip olduğu düşünülmektedir. Doğal konaklarının vahşi koyun ve keçi olabileceği düşünülmektedir (Hashemi-Fesharki ve Uilenberg, 1981; Friedhoff, 1988; Rommel, 2000). Levine (1985), *B. crassa*'nın 2-3 µm boyutlarında olduğunu ve büyük *Babesia* etkenleri arasında yer aldığını yazmaktadır.

Etkenin yayılışı ile ilgili İran'ın yanı sıra, Türkiye (Schnittger ve ark, 2003; 2004; Aktaş, 2014; Orkun ve ark, 2014; Bilgiç ve ark, 2017a) ve Macaristan'dan (Hornok ve ark, 2015) da bildirimler bulunmaktadır. Türkiye izolatu *B. crassa* (Türkiye) ile İran izolatu *B. crassa* (İran)'nın 18S rRNA dizi analizleri sonucu genetik olarak çok yakın ilişki içerisinde oldukları görülmüştür (Schnittger ve ark, 2003). Ayrıca *B. crassa*'nın vektörleri hakkında geçmişte yeterli bilgi bulunmamakla birlikte son zamanlarda yapılan araştırmalar ile bu konu aydınlığa kavuşmaya başlamıştır. *B. crassa*'ya Türkiye'de *Hae. sulcata* ve *Hae. parva*, Çin'de *Hae. concinna* ve Macaristan'da *Hae. inermis*'in vektörlük yapabildiği ile ilgili bildirimler bulunmaktadır (Aktaş, 2014; Orkun ve ark, 2014; Hornok ve ark, 2015).

#### **2.3.4.4. *Babesia foliata* Ray ve Rhaghavachari, 1941**

İlk defa Hindistan'da koyun eritrositleri içerisinde rastlanılmıştır (Ray ve Rhaghavachari, 1941). *B. foliata*'nın keçiler için enfektif olmadığı ve çift armut formlarındaki iki merozoit arasındaki açının geniş olması haricinde morfolojik olarak *B. motasi*'ye benzerlik gösterdiğinden bahsedilmekte, diğer türlerle karşılaştırılana ve vektörü



anlaşılan kadar geçerliliğinin şüpheli olduğu söylenmektedir (Uilenberg ve ark, 1980; Uilenberg, 2006). Başka bir yazar (Soulsby, 1982), küçük *Babesia* etkenleri arasında yer verdiği *B. foliata*'nın *B. ovis*'e benzediğini ve onun bir sinonimi olabileceğini, ancak *B. ovis*'e göre eritrositlerin daha merkezi kısımlarında yerleşim gösterdiğini söylemektedir. Buna karşın bir diğer yazar (Levine, 1985) da, piroplazmalarının *B. ovis*'e benzemekle beraber yaprak şeklinde olduğu ve *B. ovis*'in bir sinonimi olamayacağından bahsetmektedir. Bu tür hakkında çok fazla bilgi bulunmamakla birlikte Irak'ta mikroskopik olarak tespit edildiğiyle ilgili bildirimler bulunmakta ve bunlardan birinde *B. foliata* olduğu düşünülen türün boyutları ortalama 1,83 µm olarak verilmektedir (Sulaiman ve ark, 2010; Abdullah ve Mohammed, 2014).

#### **2.3.4.5. *Babesia taylori* (Starwar, 1935)**

Küçük *Babesia* etkenlerinden olan *B. taylori*'nin sinonimi *Piroplasma taylori*'dir. İlk kez Hindistan'da ölmüş olan evcil keçilerin kanından hazırlanan sürme kan frotilerinde görüldüğü bildirilmiştir (Starwar, 1935). Merozoitlerinin çoğunlukla oval veya yuvarlak, nadiren armut formunda, hücre içerisinde bir adet bulunuyor ise 2 x 1,5 µm boyutlarında, çok sayıda ise 1 µm veya daha az çapta olduğu ve patojen bir tür olabileceği söylenmektedir (Levine, 1985). Soulsby (1982), ise enfekte eritrositlerin çoğunlukla genişlemiş görünümde ve tek bir eritrosit içerisinde birkaç bölünme ile 8 veya 16 merozoit şekillenebilmekte olduğundan, vektörünün henüz bilinmediğinden, düşük patojeniteye sahip olduğu ve klinik olarak hemoglobinuri görülmediğinden bahsetmektedir. *B. foliata* da olduğu gibi *B. taylori* hakkında da yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bununla beraber Irak'tan mikroskopik olarak tespit edildiğine dair bildirimler yer almaktadır. Bu çalışmalardan birinde *B. taylori* olduğu düşünülen türün merozoitlerinin ortalama 1,74 µm boyutlarında olduğu bildirilmiştir (Sulaiman ve ark, 2010; Abdullah ve Mohammed, 2014).

#### **2.3.4.6. *Babesia* sp. Xinjiang ve *Babesia* sp. BQ1 (Lintan ve Ningxian)**

Koyun ve keçilerde parazitlendiği anlaşılan bu iki yeni tür Çin'de tespit edilmişlerdir. 18S rRNA dizi analizleri sonucunda geçerlilikleri ortaya konulan bu iki yeni türden; *B. sp. Xinjiang*'ın *B. ovis* ve *B. crassa*'ya, *B. sp. BQ1*'in (Lintan) ise *B. motasi*'ye genetik

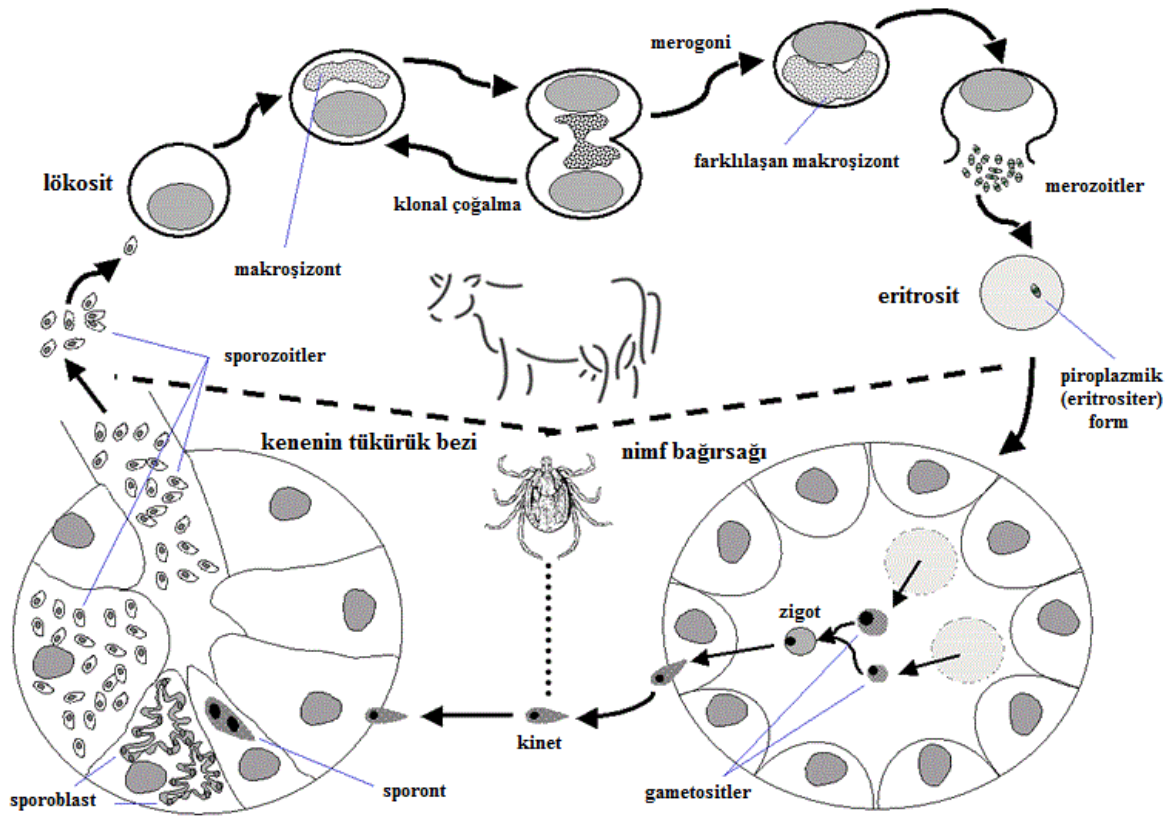
olarak yakın olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark, 2007; Guan ve ark, 2010). *Babesia* sp. Xinjiang'ın koyunlar için düşük bir patojeniteye sahip olduğu ve her hangi bir klinik belirtiyeye yol açmadığı gözlenmiştir. Deneysel olarak dalağı çıkarılarak bu tür ile enfekte edilen koyunlarda yalnızca hafif bir ateş yükselmesi ile yine düşük bir parazitemi şekillenmiş ama dereceli olarak iyileşme görülmüştür. Dalağı çıkarılmış olan hayvanın bir de deksametazon yardımıyla bağışıklık sistemi baskılandığı zaman parazitemi % 8,5 seviyelerine ulaşarak ölüm şekillenmiştir. Dalağı çıkarılmış buzağılarda *B. sp. Xinjiang* ile enfeksiyon gerçekleştirilememiştir. Morfolojik olarak incelendiğinde; omurgalı konak eritrositleri içerisindeki çift armut formlarının tipik *Babesia* görünümünde ve  $2,42 (\pm 0,35) \times 1,06 (\pm 0,22)$  µm boyutlarında olduğu tespit edilmiştir. *B. sp. Xinjiang* ile enfekte olduğu bilinen koyundan kan emmiş *H. anatolicum*'un larva, nimf ve erişkinlerinin bağırsak, tükrük bezi, hemolenf, yumurtalık ve yumurtalarında bu parazite rastlanmış, dolayısıyla bu türün vektörü olduğu anlaşılmıştır (Guan ve ark, 2009). Aynı araştırmada (Guan ve ark, 2009) *Babesia* sp. BQ1'in Lintan suşunun yanı sıra Çin'in Ningxian bölgesinden köken alan başka bir suşuna (*Babesia* BQ1 Ningxian) da yer verilmektedir. Yapılan bir başka çalışmada (Guan ve ark, 2010) ise koyun ve keçiler için enfektif olan *B. sp. BQ1*'in (Lintan) naklinde *Hae. qinghaiensis* ve *Hae. longicornis* türlerinin larva, nimf ve erişkin gelişim dönemlerinin rol oynadığı moleküler olarak ortaya konmuştur.

## 2.4. Yaşam Döngüsü

### 2.4.1. *Theileria* Türlerinin Yaşam Döngüsü

Çoğunlukla gevişgetiren hayvanlarda parazitlenen ve zorunlu hücre içi protozoonlar olan *Theileria* türleri heteroksen gelişim göstermektedirler. Yaşam döngülerini tamamlamak ve yeni nesiller meydana getirmek için bir omurgalı ve bir de omurgasız eklem bacaklı konağa ihtiyaç duyarlar. Son konak olarak adlandırılan omurgalı konakları sığır, koyun, keçi ve diğer bazı geviş getiren hayvanlar ile nadiren tek tırnaklı ve kedigillerdir. Ixodidae ailesinde yer alan *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Amblyomma* ve Argasidae ailesinde yer alan *Ornithodoros* cinslerindeki bazı kene türleri de çeşitli *Theileria* türlerinin naklinde rol oynayan vektörlerdir (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; Preston, 2001). Bazı küçük farklılıklar dışında *Theileria* türlerinin yaşam döngüleri

çoğunlukla benzer özelliklerdedir. *Theileria* türlerinin bir omurgalı konaktan diğerine vektör keneler tarafından transstadial olarak nakledildiği bilinmektedir. Transstadial nakilde; aç larva veya nimf aşamasında enfekte bir omurgalı konaktan kan emme esnasında alınan etkenler, gömlek değiştirme sonrasında aç nimf veya erişkin aşamasında kan emerken bir diğer omurgalı konağa nakledilmektedir. *Babesia* türlerinin aksine burada transovarial nakil sözü konusu olmamaktadır. Dolayısıyla yalnızca iki veya üç konaklı kene türlerinin vektör olabildiği, tek konaklı kenelerin *Theileria* türlerini naklemediği anlaşılmaktadır. Yaşam döngüsünde genel olarak; omurgalı konakta lenfosit veya makrofajlar içerisinde eşeysiz bir çoğalma olan şizogoni ve arkasından eritrositler içerisinde piroplazmik formların şekillenmesi ile omurgasız konak olan kenenin bağırsaklarında gerçekleşen eşeyli çoğalma gametogoni ve yine kenenin tükürük bezi asini hücrelerinde gerçekleşen eşeysiz çoğalma sporogoni aşamaları gözlenmektedir (Soulsby, 1982; Levine, 1985).



**Şekil 1.** *Theileria* türlerinin genel yaşam döngüsü (<http://www.theileria.org/ahdw/background.htm>)

Yaşam döngüsü, enfekte kenenin omurgalı konaktan kan emerken tükürük bezi asini hücreleri içerisindeki sporozoitleri tükürük salgısı ile birlikte kan dolaşımına bırakmasıyla başlar. Parazitin, omurgalı konağın ilk enfekte olacak hücreleri olan lenfositler gibi mononükleer hücreler için enfektif formu sporozoitlerdir. Sporozoitlerin konak hücreye ilk giriş yeri kesin olarak bilinmese de kenenin nakletmesinden sonra kısa sürede en yakındaki lenf yumrusuna ulaştığı ve girişin buradan olduğu düşünülmektedir (Shaw, 2003). *Theileria* sporozoitleri hem morfolojik görünüm ve yapısal elemanları hem de hücreye giriş ve istila mekanizmaları bakımından, apikompleksa anacında yer alan diğer cinslere göre bazı farklılıklar göstermektedir. İlk olarak, ortalama 1 µm (0,75-1,5) boyutlarında olan *Theileria* sporozoitleri, ortalama 5-10 µm boyutlarındaki diğer apikompleksa sporozoitlerine göre oldukça küçük, oval yapılı, tek çekirdekli ve hareketsizdirler. Apikal kompleks yapılarından, konoid, mikronem, mikrotübül çemberi, subpelikular iç membran kompleksi gibi organeller bulunmamaktadır. Hücreye giriş sürecinde sporozoitler hareketsiz ve pasif bir role sahiptirler (Shaw, 1997; Mital ve Ward, 2008). Pasif olarak gerçekleşen bağlanmada hücresel iskelet yapılarının rolü olmadığı için bu aşama sıcaklıktan bağımsızdır. Ayrıca apikal ucun hücre membranıyla karşı karşıya getirilmesine de gerek olmadığı için bağlanma yönünün de önemi yoktur. Fakat bağlanma sonrasındaki aşamalar aktif ve sıcaklıkla ilişkili olarak gerçekleşmektedir (Shaw ve ark, 1991; Shaw, 1997). Kenenin kan emmesi sonrasındaki beş ile 60 dakika arasındaki zaman zarfında reseptör aracılı endositoz yoluyla sporozoitin hücreye girişi gerçekleşir. Tek bir konak hücresi 15 kadar sporozoit tarafından istila edilebilmektedir. Hücreye giriş; ilk bağlanma, parazit ve konak hücre membranları arasında fermuar benzeri bir yapının şekillenmesi, özümseme ve parazitin konak hücre sitoplâzmasına sızması şeklinde birbirini izleyen bir dizi olay şeklinde gerçekleşir (Fawcett ve ark, 1982; Shaw ve ark, 1991). Diğer bazı apikompleksan parazitlerden farklı olarak *Theileria* sporozoitleri konak membranından sıyrılarak, hücre sitoplâzması içerisinde serbest kalırlar. Parazitofor bir vakuol içerisinde bulunmazlar. Çevresini saran konak hücre membranından kurtulamayan sporozoitler canlılıklarını sürdürememektedirler (Melhorn ve Schein, 1984). Sporozoitler, istila ettikleri konak hücre sitoplâzmasında yerleştikten sonra genişleyip, gelişerek trofozoit aşamasına geçerler. Sonrasında hücre bölünmesi olmaksızın DNA replikasyonu ve çekirdek bölünmesi yaşanır. Trofozoitlerden bir dizi çekirdek bölünmesi sonrasında 10 ila 20 arasında değişen sayıda çekirdeğe sahip makroşizontlar şekillenir. Makroşizontların oluşumu enfekte hücrelerde de değişime yol açarak bu hücrelerin adeta ölümsüzleşmesine ve sınırsız bir çoğalma aşamasının başlamasına sebep olur. Enfekte konak hücresi ile parazitin senkronize bir şekilde bölünmeye başladığı gözlenmektedir (Hulliger ve ark, 1964; Brown, 1987).

Kenenin kan emmeye başlamasından sonraki beşinci günden itibaren parazitin inokule edildiği noktaya en yakın lenf yumrusundan punksiyon yoluyla hazırlanan sürme lenf frotilerinde enfekte hücreler fark edilebilmeye başlanmaktadır (İlhan, 1999). Bu şekilde konak hücrelerinin adeta kanserleşerek çoğalması ilk etapta yalnızca sporozoitlerin ilk ulaştığı lenf yumrusunda gerçekleşirken, ilerleyen günlerde metastaz yaparak kan dolaşımı yoluyla diğer doku ve organlara da yayılır. Konak hücrelerinin bölünerek çoğaldığı bu dönemde parazit de eşzamanlı çoğalmasını sürdürerek yeni oluşan hücelere yayılmaktadır. Bu aşamada makroşizontların bazıları farklılaşarak çok sayıdaki tek çekirdekli merozoitleri meydana getirirler (Shaw ve Tilney, 1992). Çok sayıda oluşan ve konak hücre sitoplazmasında serbest halde bulunmakta olan bu merozoitler olgunlaşarak konak hücre zarının parçalanması ile kan dolaşımına karışırlar. Kan içerisinde serbest halde bulunan merozoitler artık eritrositler için enfektif formlardır. Merozoitler morfolojik yapıları ve eritrositlere giriş mekanizmaları bakımından sporozoitlere benzerlik gösterirler. Merozoit ile eritrositin ilk temas noktasından başlayarak merozoitin çevresi konak hücre membranı ile sarılarak hücre içerisine alınır. Sonrasında parazit roptri proteinleri sayesinde çevresini saran membrandan kurtularak serbest kalır. Eritrositler içerisine giriş gerçekleştikten sonra merozoitler gelişimlerini sürdürerek piroplazmik formları şekillendirirler. Makroşizontların şekillenmesinden sonraki birkaç gün içerisinde veya başka bir ifadeyle sporozoitlerin inokulasyonundan 8-10 gün kadar sonra, kan frotilerinde eritrositler içerisinde yuvarlak, oval, virgül gibi değişik morfolojilere sahip olan bu piroplazmik formlar görülmeye başlanabilmektedir (Pipano ve Shkap, 2006). Bazı türlerde görülmemekle birlikte, piroplazmik formlar merogoni benzeri bir bölünme ile çoğalmalarını sürdürüp eritrositleri terk eder ve yeni eritrositleri enfekte etmeye devam ederler. Yaşam döngüsünde türler arasında gözlenen farklılıklardan biri de burada karşımıza çıkmaktadır. *T. parva*'nın eritrositler içerisindeki piroplazmik formlarının bölünme ve çoğalma geçirmediği ve bu tür için omurgalı konaktaki eşeysiz çoğalma aşamasının yalnızca lenfositlerdeki şizogoni süreci olduğu belirtilmektedir (Taylor ve ark, 2016). Buna karşın örneğin şiddetli *T. annulata* enfeksiyonlarında enfekte eritrosit oranının % 90'lara kadar ulaşabileceği bildirilmiştir (Mehlhorn ve Schein, 1984). Bu aşamada yaşam döngüsünün devamı için bu piroplazmik formların omurgasız konak olan vektör kene tarafından kan emme esnasında alınması gerekmektedir. Sığırlar bu piroplazmik formlarla uzun süre enfekte kalabilmekte ve parazitin diğer duyarlı konaklara yayılması bakımından rezervuar konak rolü oynayabilmektedirler (Pipano ve Shkap, 2006). Eritrositlerin enfekte edilmesi aşamasında *Plasmodium* ve *Haemoproteus* türlerinin aksine *Theileria* enfeksiyonlarında pigment oluşumu kesinlik kazanmış değildir. *Theileria* türlerinin hemoglobini tamamen sindirdiği

zannedilmekle beraber, *T. velifera*, *T. seperata* ve *T. buffeli*'de olduğu gibi hemoglobinin kısmen sindirilerek eritrosit sitoplazmasında hemoglobin benzeri yapıların kristalleşmesi ile pigment oluşumu arasında bir ilişki olabileceği düşünülmektedir (Uilenberg, 2006).

Bundan sonra vektör kene enfekte omurgalı konaktan kan emerken eritrositler içerisindeki parazite ait piroplazmik formları da almaya başlar. Kenenin bağırsağına gelen eritrositler içerisindeki tüm piroplazmik formlar canlılığını sürdürememektedir. Çoğunlukla kan emmenin başladığı ilk günlerde alınan parazitler eritrositlerle birlikte yıkıma uğrayarak kene tarafından sindirilmektedirler. Ancak kene doymaya başladıktan sonraki, dolayısıyla kan emmenin son birkaç gününde alınan parazitler kenenin bağırsak lümeninde yıkılan eritrositlerden çıkarak serbest kaldıktan sonra canlılıklarını ve gelişimlerini sürdürebilmektedirler. Buna ilaveten kene larva ve nimf dönemlerinde, erişkin dönemine nazaran daha hızlı kan emmekte, bundan dolayı da konakta kalış süresi ve emdiği kan hacmi erişkine göre daha az olmaktadır. Dolayısıyla kenenin erişkin aşamasında aldığı enfekte eritrosit miktarı ve buna bağlı olarak canlılığını ve gelişimini sürdürebilen parazit miktarı, larva ve nimf dönemlerine göre daha fazla olmaktadır. Buna ek olarak, bağırsak epitelyum hücrelerinin ve lümeninin durumu, parazitin canlılığı için ihtiyaç duyduğu yaşam şartları bakımından kene türlerine göre farklılıklar göstermektedir. Ayrıca omurgalı konaktaki enfekte eritrosit miktarı da (parazitemi) yaşam döngüsünün devamı bakımından önem arz etmektedir. Dolayısıyla kan emme sırasında eritrositlerle birlikte alınan piroplazmik formların gelişerek gametogoni aşamasını gerçekleştirebilmesini etkileyen pek çok faktör vardır (Shaw, 1997; 2003). Tüm bu şartlar içerisinde uygun koşulları yakalayıp canlı kalabilen parazitlerin farklılaşmaya başlamasıyla birlikte gametogoni aşamasına girilmiş olur. Kenenin doyararak, kan emmeyi tamamlamasından sonraki ilk dört gün içerisinde bağırsak lümenindeki serbest haldeki piroplazmik formlar farklılaşarak bazıları önce makrogamontları sonra da gelişimini sürdürerek ortalama 4-5 µm çapındaki dişi eşey hücresi olan küresel yapıdaki makrogametleri oluştururlar. Diğer bir kısım piroplazmlar ise ince, iğ benzeri mikrogamontları ve sonra bunların gelişimini sürdürmesiyle erkek eşey hücresi olan mikrogametleri oluşturular. Filiform yapıdaki mikrogametler; mikrogamontlarda bulunan kamçı benzeri çıkıntılarda sayıları dört kadar olabilen çekirdekçiklerin oluşması ve sonra bunların ayrılmaları ile meydana gelmektedirler (Schein ve ark, 1975; Gauer ve ark, 1995). Daha sonrasında haploid erkek eşey hücresi olan mikrogametlerin, haploid dişi eşey hücresi olan makrogametleri döllemesi ile diploid kromozom sayısına sahip olan zigot meydana gelir. Zigot şekillenmesini takibeden bu süreçte *T. parva* ile *T. annulata* arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır. *T. parva* zigotu vektör kenenin bağırsak epitelyum hücresi içerisinde iki

aşamalı mayoz bölünme sonrasında haploid hale gelir ve kinetler bu haploid zigotun farklılaşmasıyla şekillenir. Başlangıçta haploid olan kinetler sonradan DNA'larını poliploid seviyeye yükseltirler. *T. annulata*'da ise zigotun kinete farklılaşması sürecinde poliploid hale geçtiği görülmektedir (Gauer ve ark, 1995). Bağırsak epitelyum hücreleri içerisine invaze olan zigotların burada farklılaşmaları ile de çoğunlukla tek çekirdeğe sahip olan çomak şekilli, hareketli ve yine diploid kromozom sayısına sahip kinetler oluşur. Parazitin yaşam döngüsündeki gelişim aşamalarından yalnızca zigot ve kinetin kromozom sayısının diploid olduğu düşünülmektedir. Zigotun oluşmasından ortalama 12 ile 15 gün kadar sonra barsak epitelyum hücreleri içerisinde bu hareketli kinetlerin olduğu gözlenmiştir (Schein ve Friedhoff, 1978). Bilindiği kadarıyla çekirdek bölünmesinin erken başlamasından dolayı yalnızca *T. parva* kinetlerinin dört çekirdekli olabildiği kaydedilmiştir (Mehlhorn ve ark, 1994; Shaw, 2003). Hareketli olan bu kinetler daha sonra bağırsak epitelyum hücrelerini terk ederek hemolenfe geçer ve bu yolla tükürük bezlerine doğru yol almaya başlarlar (Schein ve Friedhoff, 1978). Tükürük bezlerinde tip II veya tip III asini hücreleri içerisine giren kinetler gelişimlerini burada sürdürerek farklılaşır ve sporoblastları şekillendirirler. Sporoblast şekillenmesi sonrasında çekirdek bölünmesiyle, asini hücreleri içerisinde çok çekirdekli sinsityal yapı meydana gelir ve bu da asini hücrelerinde genişlemeye sebep olur (Fawcett ve ark, 1985). Bu aşamadan sonra gelişimin devam etmesi ve sporogoni aşamasının başlaması için kenenin diğer bir omurgalı konaktan kan emmeye başlaması gerekmektedir. Kan emme işlemi başlayana kadar, parazitin gelişmesi bu sporoblast aşamasında beklemede kalır (Bilgiç, 2010). Kenenin kan emmeye başlaması ile sporoblastlar aktive olarak sporozoitlerin şekillenmesi anlamına gelen sporogoni aşamasına geçerler. Kenenin her bir enfekte asini hücresi içerisinde tahmini kırk bin kadar sayıda meydana gelmiş olan sporozoitler asini hücrelerini tahrip ederek tükürük salgısına geçerler (Young ve ark, 1992). Kene tekrar kan emmeye başladığı anda nakil hemen gerçekleşmemekte, sporozoitlerin omurgalı konak lenfositleri için enfektif olabilmeleri amacıyla önce olgunlaşmaları gerekmekte ve bu da kenenin kan emmeye başlamasından birkaç gün sonra gerçekleşmektedir (Uilenberg, 2006). Kan emmenin başlamasından birkaç gün sonra tükürük salgısı ile birlikte sporozoitler omurgalı konağa inokule edilmeye başlar ve sporozoit inokulasyonu bir seferde değil belirli aralıklarla yavaş yavaş gerçekleştirilir (Shaw, 2002). Bundan sonra sporozoitlerin omurgalı konakta lenfositleri enfekte ederek şizogoni aşamasını başlatmasıyla yaşam döngüsü yeniden başlayarak aynı şekilde devam eder.

#### 2.4.2. *Babesia* Türlerinin Yaşam Döngüsü

Sığır, koyun, keçi, deve, domuz, tektırnaklılar, köpek, kedi, kemirgenler, kanatlılar gibi çok çeşitli hayvan türlerinde ve insanlarda parazitlenerek ölümcül olabilen önemli hastalık tablolarına yol açtıkları bilinen *Babesia* türleri, heteroksen gelişim gösteren zorunlu hücre içi ve zoonoz protozoonlardır (Levine, 1985; Mehlhorn, 2008b; Abd-Elmalek ve ark, 2016). Omurgalı konaklarda eritrositler içerisine girerek burada ikiye veya dörde bölünmek suretiyle çoğalmalarını sürdüren *Babesia* türlerinin yaşam döngülerinde bir omurgalı konaktan diğerine nakilde rol oynayan vektörler ise Ixodidae ailesinde yer alan *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Hyalomma* ve Argasidae ailesinden *Ornithodoros* cinslerindeki bazı türlerdir (Levine, 1985). *Babesia* türlerinin yaşam döngüsünde *Theileria* türlerinden önemli ölçüde farklılıklar gösteren bazı özellikler bulunmaktadır. *Babesia* türleri, *Theileria* türlerinin aksine omurgalı konakta, yalnızca eritrositler içerisine girerek çoğalmalarını bu hücreler içerisinde sürdürmektedirler (Riek, 1968; Uilenberg, 2006). Ayrıca omurgasız konakları olan kenelerde de *Theileria* türlerinde görülen transstadial naklin yanı sıra transovarial naklin de söz konusu olduğu gözlenmektedir (Mehlhorn ve Schein, 1984; Uilenberg, 2001). Bu konuyla ilgili yapılan bazı araştırmalar, *Babesia* türlerinin naklinde biyolojik vektör olan kenelerin paraziti yeni bir enfekte konak ile karşılaşmaksızın transovarial olarak üç nesil boyunca aktarabildiklerini göstermiştir (Eckert ve ark, 2005). Bu özellikler, sebep olunan hastalıkların hem patogenez hem de epidemiyolojileri bakımından farklılıklar arz etmesine yol açmaktadır. Ayrıca *B. bovis* enfeksiyonlarında enfekte eritrositlerin merkezi sinir sisteminde kapillar damar tıkanıklıklarına ve dolayısıyla sinir sistemi ile ilgili rahatsızlıklara yol açtığı bilinmektedir (Mehlhorn ve Schein, 1984).

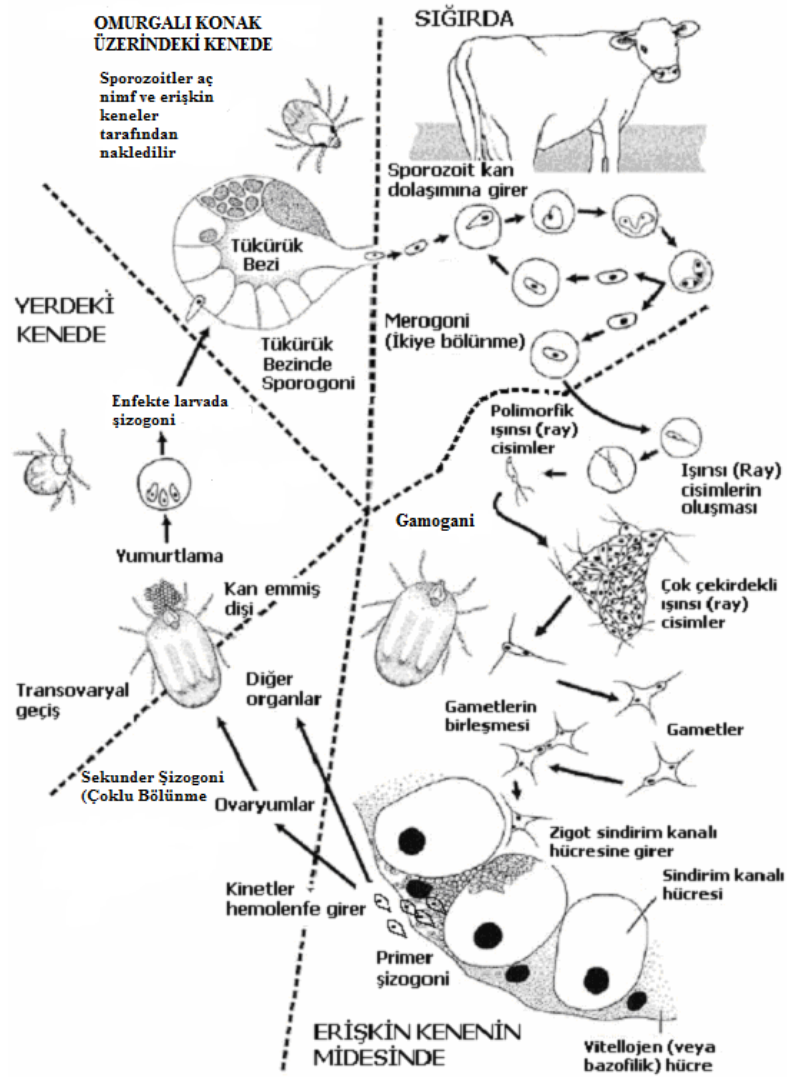
Bazı farklılıklar haricinde *Babesia* türlerinin yaşam döngülerinin çoğunlukla benzer şekilde ilerlediği görülmektedir. Genel olarak *Babesia* türlerinin yaşam döngülerini tamamlayabilmeleri için; omurgalı konak eritrositleri içerisindeki şizogoni (merogoni) ile merozoitlerin şekillenmesi, bunu takiben vektör kenenin bağırsaklarında gerçekleşen eşeyli çoğalma gametogeni ile zigotun oluşması ve yine kenenin tükürük bezi hücrelerinde gerçekleşen sporogoni yoluyla sporozoitlerin meydana gelmesi gerekmektedir (Levine, 1985; Uilenberg, 2006). Buradan da anlaşıldığı üzere *Babesia* türleri yaşam döngülerinde omurgalı konaktakine nazaran daha uzun bir süreyi vektör kenede geçirmektedirler. Bununla beraber bazı kaynaklarda yaşam döngüsü nedeniyle *T. equi* olarak da geçen *B. equi*, *B. microti* ve *B. rodhaini*'de omurgalı konakta lenfosit ve lenfoblastlar içerisinde gerçekleşen bir şizogoni



aşamasından söz edilmektedir (Schein ve ark, 1981; Mehlhorn ve Schein, 1984; Bilgin, 2007). Ayrıca *B. equi* ve *B. microti*'de transovarial nakil görülmediği (Walter ve Weber, 1981; Mehlhorn ve Schein, 1984), tüm bu farklılıklardan dolayı yeniden sınıflandırılarak bu türler *Theileria* cinsine taşınmıştır (Telford ve ark, 1993; Uilenberg, 2006). *Babesia* türlerinin enfekte ettikleri eritrositler içerisinde *Plasmodium* ve *Haemoproteus* türlerinin aksine pigment oluşumuna neden olmadıkları ve eritrosit içerisindeki hemoglobinin tamamını hemozin isimli artık madde bırakmayacak şekilde pinositoz yoluyla sindirdikleri bildirilmektedir (Uilenberg, 2006).

*Babesia* türlerinden biriyle enfekte aç bir kenenin kan emme sırasında tükürük salgısıyla birlikte etkenin sporozoit formlarını omurgalı konağın dolaşım kanına inokule etmesiyle birlikte yaşam döngüsü başlamış olur. Kenenin kan emme süresi boyunca sürekli bir sporozoit inokulasyonu söz konusudur. Dolayısıyla kan emme süresi ile omurgalı konağa nakledilen sporozoit miktarı arasında doğru orantı bulunmaktadır (Mackenstedt ve ark, 1995). Sporozoitler dolaşıma ilk girdikleri anda eritrositler için henüz enfektif olmayıp, önce olgunlaşarak aktive olmaları gerekmektedir. Bunun için gerekli olan sürenin türler arasında farklılık arz ettiği bildirilmektedir. Örneğin *B. bovis* sporozoitlerinin kenenin larva formunun kan emmeye başlamasından sonraki iki-üç günlük süreçte aktive olduğu (Riek, 1966), buna karşın *B. bigemina* sporozoitlerinin aktive olması için ortalama 9 günlük bir zamana ihtiyaç duyulduğu, bu yüzden de *B. bigemina*'nın naklinde larva formlarının rol alamadığı bildirilmiştir (Hoyte, 1961). *Babesia* sporozoitleri morfolojik yapı olarak küçük ve uzamış bir görünüm sergilemektedirler. Yüzeyi, konak hücre ile ilk yapışmanın gerçekleşmesinde rolü olan fuzzy-coat isimli yüzey örtüsüyle kaplıdır. Ayrıntılı incelemede kutup halkası, mikronem ve roptriden oluşan apikal kompleks yapılarına sahip olduğu görülür ki bu yapılar konak hücreye girişte aktif bir süreç olduğunu göstermektedir. Sporozoit bu apikal kompleks yapılarının bulunduğu uç kısmını konak hücre ile temas edecek şekilde döndürerek yönünü aktif olarak tayin eder. Bu temas sonrasında konak hücre membranında içe doğru eğilme (invaginasyon) şekillenmeye başlar. İnvaginasyonla birlikte roptri proteinlerinin salınımı da başlar ve sporozoit yavaş yavaş parazitofor bir vakuol içerisinde eritrosit sitoplazmasına alınır. Hücre içerisine giriş sırasında fuzzy-coat tabakası dışarıda bırakılır ve sporozoit eritrosit sitoplazması içerisinde biri kendisine diğer konak hücreye ait olan iki membranla çevrili olarak kalır. Sonrasında parazitofor vakuole ait membranın parçalanarak, parazitinin hücre içerisinde serbest kaldığı görülür (Friedhoff ve Scholtyseck, 1977; Igarashi ve ark, 1988). Gelişmesini sürdüren sporozoitler yuvarlak bir şekil alarak trofozoitleri şekillendirirler. Trofozoitlerin de kutup halkası, roptri, mikronem, mikrotubul ve konoid

yapılarına sahip olduğu görülmektedir. Şekillenen trofozoitin uç kısmında tomurcuk benzeri çıkıntılar oluşmaya ve çekirdekte de benzer şekilde bu tomurcuklanan çıkıntıya doğru uzama şekillenmeye başlar. Çekirdekten gelen parçayla birlikte trofozoitin tomurcuklanan bu parçasının kopması sonucu bölünme gerçekleşir ve merozoitler şekillenir. Bu ikiye bölünme aşaması şizogoniye benzemekle birlikte, şizogonide çekirdek bölünmesi sitoplazmadaki değişikliklerden önce gerçekleşmektedir (Mehlhorn ve Schein, 1984; Friedhoff, 1988). Bu şekilde pek çok merozoit trofozoit halini alarak ikiye bölünmeye devam eder ve eritrositlerin parçalanmasıyla birlikte merozoitler yeni eritrositler içerisine girerek, yeniden trofozoit halini alıp, ikiye bölünerek çoğalmayı sürdürürler (Telford ve ark, 1993). Genel olarak bunlar kan frotilerinde tek veya çift armut formları şeklinde gördüğümüz, çift armut olanlar ince uçlarından birbirine yapışık görünen formlardır. Bu formlar türlere göre farklı boyutlardadır ve kabaca büyük ve küçük *Babesia* etkenleri olarak sınıflandırılırlar. Bazı eritrositler içerisinde dört adet merozoitten oluşan dördü armut formları da görülebilmektedir. Bunlara ‘Maltese Cross’ formları denmektedir. Bu aşamada hızlı bir şekilde devam eden çoğalmadan dolayı fazla sayıda eritrosit tahribatı ve dolayısıyla hemoglobini şekillenebilmektedir (Telford ve ark, 1993). Kırmızı kan hücrelerinin büyük bir yüzdesi enfekte olana kadar bu şekilde bölünme ve yayılmanın devam edebileceği bildirilmektedir (Soulsby, 1982; Friedhoff, 1988). Bununla birlikte; omurgalı konak eritrositleri içerisinde devam eden bu süreç sırasında bazı trofozoitlerin potansiyel gametositler oldukları, bu trofozoitlerin bu aşamada çoğalmayıp, bunun yerine yalnızca boyutlarının büyüdüğü, daha sonra bunların kenenin bağırsağında eritrositleri terk etmeden önce gelişerek gametlere farklılaştığı bildirilmiştir (Rudzinska, 1976; Rudzinska ve ark, 1979; Mehlhorn ve ark, 1980).



Şekil 2. *Babesia* türlerinin genel yaşam döngüsü (Bock ve ark, 2004)

Bundan sonra vektör kenenin enfekte omurgalı konaktan kan emerken eritrositlerle birlikte bu piroplazmik formları da almasıyla birlikte yaşam döngüsünün omurgasız konak aşaması başlamış olur. Kenedeki gelişimin çevre sıcaklığıyla yakından alakalı olduğu ve en hızlı gelişimin 28°C sıcaklıkta gerçekleştiği bildirilmektedir (Soulsby, 1982). Kenenin kan emmeye başlamasından 10 saat kadar sonra kenede parazitin piroplazmaları tespit edilebilmeye başlanmaktadır. Kan emmeye başlamanın 46-60. saatleri civarında etkenler kenenin bağırsağındaki eritrositler içerisinde hala görülebilmekle birlikte, gametosit yönünde gelişim göstermiş olanların yeni organeller şekillendirmeye başladığı gözlenir (Homer ve ark, 2000). Bu organellerden en dikkate değer olanları organizmanın ön ucunda oluşmaya başlayan ‘ok ucu’ şeklindeki yapıdır. Bu yapı ‘Strahlenkörper’ veya ‘ışınsal cisimcik (ray body)’ isimleriyle anılmaktadır (Koch, 1906). Bu ışınsal cisimciklerin eşey hücreleri olduğu düşünülmüş ve sonradan gerçekten de bunların gelişerek mikro ve makrogametlere

dönüşükleri anlaşılmıştır (Rudzinska ve ark, 1983a; Kakoma ve Mehlhorn, 1993). İlk etapta çok çekirdekli iken, bölünerek çoğalan bu ışınsal cisimcikler, sonradan tek çekirdekli ve haploid yapıda çok sayıdaki mikro ve makro gametleri şekillendirirler. Morfolojik bakıda birbirinden ayırt edilemeyen mikro ve makro gametlerin sonradan elektron yoğunlukları arasında farklılık olduğu anlaşılmış ve anizogamik özellik gösterdikleri kabul edilmiştir (Mehlhorn ve Schein, 1984). Mikro ve makro gametlerin kaynaşması ile oluşan zigot, bu 'ok ucu' şeklindeki yapıyı kullanarak, kenenin kan emmesini takip eden ortalama 80 saat kadar sonra kenenin bağırsak epitelyum hücrelerine, özellikle de bazofilik hücrelere giriş yapar (Rudzinska ve ark, 1983b). Epitel hücreleri içerisinde 'ok ucu' benzeri yapıyı kaybeden zigot yuvarlağımsı bir şekil alarak genişlemeye başlar. Önce çekirdeğinin çok sayıda bölünmesi ve sonra her bir çekirdekçiğin çevresinin sitoplazma ve zarla çevrilmesi ile bir zigottan çok sayıda 'kinet' adı verilen hareketli formlar şekillenmiş olur. 'Sporokinet', 'ookinet' veya 'vermikül' isimleriyle de anılan bu kinetler, mikronem, kutup halkası, roptri ve subpekikular mikrotubul yapılarına sahiptir. Ortalama 10-15 µm uzunluğunda, çomak şekilli ve ön ucunda şemsiye benzeri bir kep yer almaktadır. Morfolojik yapısı ve hareket için gerekli apikal kompleks organelleri sayesinde aktif olarak hareket edebilen bu kinetler bağırsak duvarını delerek hemolenfe geçer ve bu sayede kenenin vücudunda böbreklerde malpigi tubul hücreleri, kas fibrilleri, tükürük bezleri veya dişilerde ovaryumlar gibi çok çeşitli yerlere göç ederler. Kinetler göç ettikleri dokularda şizogoni ile çoğalmalarını sürdürür ve ikinci nesil kinetleri şekillendirirler. Bu yolla dişi kenenin ovaryumlarına gelen kinetlerin yumurtalara aktarılmasıyla (transovarial nakil) yeni nesiller de *Babesia* türleri ile enfekte olarak yumurtadan çıkmaktadırlar (Friedhoff, 1988; Kakoma ve Mehlhorn, 1993). Buradan anlaşıldığı üzere; transovarial nakil, dişi kenenin kan emerken aldığı etkenleri yumurta yoluyla yeni nesillere aktarması anlamına gelmektedir. Ancak enfekte dişi bir kenenin yumurtalarından çıkan larvalar kendileri enfekte olsalar bile, omurgalı bir konağa etkenleri nakledebilmek için önce kan emip, gömlek değiştirerek aç nimf olmaları gerekmektedir. Bir diğer ifadeyle, transovarial nakil sonrasında, sporozoitlerin omurgalı konaklara naklinde enfekte larvalar değil, bunlardan gelişen nimf ve erişkinler rol almaktadırlar (Soulsby, 1982; Igarashi ve ark, 1988; Uilenberg, 2006). Transstadial nakil olması için ise; aç larva veya nimf aşamasında etkenleri alan kenenin gömlek değiştirerek aç nimf veya erişkin safhasına geçmiş ve etkenlerin de gametogoni aşamasını tamamlayarak kinetlerin hemolenf yoluyla diğer doku ve organların yanı sıra tükürük bezlerine de ulaşmış olması gerekmektedir (Rudzinska ve ark, 1983b). Bu aşamada tükürük bezi hücreleri içerisinde öncelikle parazit büyüyüp genişleyerek, hipertrofiye uğramış olan hücrelerin içerisinde büyük bir sporoblast ile

doldurur. Bu sporoblastın içi, ilerleyen aşamada sporozoitlerin tomurcuklanacağı çok çekirdekli, üç boyutlu, dallanmış bir ağ örgüsü ile kaplıdır (Karakashian ve ark, 1983). Bundan sonra gelişmenin devam edebilmesi kenenin kan emmeye başlaması gerekmektedir. Kan emmenin başlamasıyla birlikte sporoblasttaki ağ örgüsü içerisinde, oluşacak sporozoitlere katılmak üzere mikronem, roptri gibi organeller şekillenmeye başlar. Sonrasında tomurcuklanma ile olgun sporozoitler meydana gelir. Olgun sporozoitlerin armut şekilli ve ortalama 2,2 x 0,8 µm boyutlarında olduğu, ön uçta bir roptri, birkaç mikronem, ribozom, mitokondri benzeri organeller ve endoplazmik retikulum ihtiva ettikleri gözlenmiştir (Karakashian ve ark, 1983; Kakoma ve Mehlhorn, 1993). Her bir sporoblattan ortalama 5 ile 10 bin arasında sporozoit meydana gelebilmektedir (Homer ve ark, 2000). Çoğunlukla aç nimf veya erişkin kenenin omurgalı konaktan yeniden kan emerken tükürük salgısı ile aktive olmuş bu sporozoitleri konağın dolaşım kanına inokule etmesiyle etkenin yaşam döngüsü yeniden başlamakta ve böylece devam edip gitmektedir. Ancak; kene kan emmeye başladığı anda nakil hemen gerçekleşmemektedir. Sporozoitlerin omurgalı konak eritrositleri için enfektif olabilmeleri amacıyla önce olgunlaşmaları gerekmekte ve bu da kenenin kan emmeye başlamasından birkaç gün sonra gerçekleşmekte ve böylece olgun sporozoitler konağa aktarılarak eritrositleri enfekte edebilmektedirler (Uilenberg, 2006).

## **2.5. Patogenez ve Klinik Bulgular**

### **2.5.1. Theileriosisde Patogenez ve Klinik Bulgular**

*Theileria* türlerinin parazitlendikleri omurgalı konaklarda sebep oldukları patojen etkiler ile ortaya çıkan hastalık tablolarının şiddeti ve klinik olarak gözlenebilen hastalık belirtileri, benzerliklerin yanında bazı parametrelere bağlı olarak farklılıklar da gösterebilmektedir. Enfeksiyondan sorumlu *Theileria* türünün patojen olup olmaması, patojen ise parazit süşunun virulansı, vektör kene enfestasyonunun şiddeti, kene tarafından kan emerken inokule edilen sporozoit miktarı, etkenin tek başına veya diğer başka patojenlerle birlikte bulunma durumu (tekli veya çoklu enfeksiyon), konağın bağışıklık sisteminin etkene karşı ırk, yaş, aşılama gibi faktörler nedeniyle duyarlı veya dirençli olması gibi etmenler hastalığın patogenezini ve klinik görünümünü etkilemektedirler (Soulsby, 1982;

Preston, 2001; Schmidt ve ark, 2010). Örneğin sığırlarda *T. annulata* ve *T. parva* sırasıyla tropikal theileriosis ve doğu sahili humması hastalıklarından sorumlu, oldukça patojen türler iken, *T. taurotragi*, *T. velifera* ve *T. sinensis*'in apatojen veya çok düşük patojeniteye sahip oldukları bilinmektedir. Benzer şekilde koyun ve keçilerde oldukça patojen *T. lestoquardi*, *T. luwenshuni* ve *T. uilenbergi* gibi türlerin yanında, *T. ovis* ve *T. separata* gibi apatojen türler de parazitlenebilmektedir (Levine, 1985). Theileriosiste şekillenen patogenez tablosu ve gözlenen klinik bulgular, parazitin çoğunlukla lenfositler üzerindeki transformasyon etkisi (proliferasyon) ve hem lenfositler hem de eritrositler üzerindeki tahribatına bağlı olarak meydana gelmektedir. *T. annulata*'da hem lenfosit proliferasyonu ve sitokin üretimi, hem de lenfosit ve eritrosit tahribatı nedeniyle bunlarla bağlantılı olarak klinik bulgular ortaya çıkarken, *T. parva*'nın sığırlarda piroplazmik formlarının görülmediğinden veya az sayıda bulunup eritrositler içerisinde bir çoğalma geçirmediğinden bahsedilmektedir. Bu yüzden patojen etkisi ağırlıklı olarak lenfositler üzerindeki proliferasyon etkisi ve bunu takiben tahribatına bağlıdır (Preston, 2001; Lawrence ve Williamson, 2006). Buna karşılık *T. mutans* veya *T. sergenti/buffeli/orientalis* gibi lenfositler üzerinde transformasyon etkisi olmadığı bilinen türlerde ise patojen etki çoğunlukla yalnızca piroplazmik formların sebep olduğu eritrosit tahribatına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Sugimoto ve Fujisaka, 2002; Lawrence ve Williamson, 2006; Lawrence ve ark, 2006). Enfekte lenfositler akut enfeksiyonlarda çevredeki mezenterik, mediastinal vd. lenf yumruları ile dalak ve timusa, dokuzuncu günde akciğer, böbrek, karaciğer, hipofiz bezi, adrenal bez, abomazuma, on ikinci günde beyine ve on dördüncü günde kalp dokusuna kadar yayılabilmektedir. Bundan dolayı hastalığın patogenezinde, şizogoni aşamasında metastaz yaparak lenf dolaşımıyla vücudun çeşitli doku ve organlarına yayılan enfekte lenfositlere karşı şekillenen yangısal reaksiyonun da rolü bulunmaktadır (Forsyth ve ark, 1999). Bunlara ilaveten hastalığın patogenezinde omurgalı konağın kendi bağışıklık sisteminin de bazı zararlı etkilere sebep olabileceği ihtimali bildirilmektedir (Hooshmand-Rad, 1976).

Konağın, hem parazitin şizont formları ile enfekte, hem de enfekte olmayan hücreleri tarafından üretilen sitokinlerin, özellikle de tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ )'nın hastalığın ateş, iştahsızlık, kilo kaybı ve aşırı zayıflama gibi klinik ve hemorajik nekrozlar gibi patolojik belirtilerinin altında yatan önemli bir etken olduğu düşünülmektedir. Parazitin hipofiz bezindeki ve ağır hasar almış haldeki adrenal bezlerdeki varlığı, endokrin ve bağışıklık sistemindeki bozulmaların kaynağı olabileceği de bildirilmiştir (Preston, 2011).

Tropikal theileriosis perakut, akut, subakut, hafif ve kronik şekillerde seyredebilir ve buna göre değişen klinik görünümler sergileyebilmektedir (Levine, 1985). Perakut

enfeksiyonlar, duyarlı hayvanlara etkenlerin inokulasyonunu takip eden 3-5 günlük süreçte ölümle sonuçlanabilmektedir. Ölüm oranı % 10-90 arasında değişmekte, endemik bölgelerde kültür ırkı sığırlarda % 90'a ulaşabilirken, yerli ırklarda genellikle % 5 civarında kaldığı belirtilmektedir (Neitz, 1957; Levine, 1985). Pasif bağışık veya aşılama ile etkenlere karşı direnç geliştirilmiş hayvanlarda ise çoğunlukla klinik belirti gözlenmez veya çok hafif seyirli enfeksiyonlar şekillenir ve kendiliğinden iyileşme görülebilir (Pipano ve Shkap, 2006). Hastalığın ağırlıklı olarak akut formu ile karşılaşılmaktadır. (Levine, 1985). Kenenin kan emmeye başlamasından sonra ortalama on beş gün (8-30) kadar sonra 40-41,7°C'lik ilk ateş görülmeye başlanır (Neitz, 1957; Levine, 1985). Bu ilk ateşten bir iki gün önce kenenin kan emdiği taraftaki en yakın yüzeysel lenf yumrusunda palpe edilebilir derecede büyüme (lenfadenopati) gerçekleşecektir. Sporozoit inokulasyonundan ortalama beş gün kadar sonra bu lenf yumrusundan kanül yardımıyla lenf punksiyonu yapılarak hazırlanacak sürme lenf frotilerinde hipertrofiye uğramış lenfosit ve monositik hücreleri içerisinde veya serbest olarak parazite ait şizontlar görülebilmektedir. Etkenlerin naklinden 9-10 gün kadar sonra ise kan frotilerinde eritrositler içerisinde etkenin piroplazmik formları fark edilmeye başlanmaktadır (İlhan, 1999). Sürekli veya dalgalı olabilen ateş ortalama 5-20 gün kadar sürer. Ateşin görülmesinden sonraki günlerde iştahsızlık, geniş getirmenin azalması veya durması, kalp atım hızının yükselmesi, zayıflık, diğer yüzeysel lenf yumrularında ve göz kapaklarında şişkinlik, bazen mukuslu veya kanlı olabilen ishal, süt veriminde azalma, salya ve burun akıntısı, kulaklarda sarkma, sarılık, mukozalarda peteşiyel kanamalar, başın aşağı düşmesi, halsizlik, bazen sinirsel semptomlar gibi klinik belirtiler gözlenmeye başlanır (Preston, 2001; Taylor ve ark, 2016). Hastalık devam ettiği müddetçe lenfosit ve nötrofil sayılarındaki azalmaya bağlı bir lökopeni tablosu şekillenebilir (Laiblin, 1978; Preston ve ark, 1992; Preston, 2001). Ancak Mehlhorn (2008a) *T. annulata* enfeksiyonlarında lökopeninin her zaman şekillenmediğinden bahsetmektedir. Etkenlerin piroplazmik çoğalma devresinde çok sayıda eritrosit tahribatından dolayı şiddetli anemi ve buna bağlı olarak solunum güçlüğü meydana gelmektedir. Aneminin şiddeti hem piroplazmik çoğalmadan dolayı eritrosit tahribatı hem de enfekte eritrositlerin böbrek ve karaciğerde yıkımlanmasından kaynaklanmaktadır (Barnett, 1977; Uilenberg, 1981). Devam eden günlerde şiddetli zayıflama ve klinik bulguların görülmesinden 1-2 hafta kadar sonra da ölüm şekillenebilmektedir (Uilenberg, 1981; Taylor ve ark, 2016). Enfeksiyondan kurtulan sığırların ise uzunca bir süre etkenleri taşıdığı bilinmektedir (Gill ve ark, 1977; Uilenberg, 1981; Taylor ve ark, 2016).

Doğu sahili hummasının (*T. parva* enfeksiyonu) patogenezi ve klinik bulguları da yukarıdaki tabloya benzerlik göstermektedir. Yalnızca tropikal theileriosisde farklı olarak

ikterus ve daha şiddetli anemi tablosu görülürken, *T. parva*'da öksürük gözlenmektedir. Yüksek ateş, lenfadenopati, şiddetli akciğer ödemi ve aşırı zayıflık *T. parva* enfeksiyonlarındaki genel klinik görünümdür. Tropikal theileriosisdeki diğer genel bulgular burada da görülebilmektedir. Genellikle hastalığın son aşamalarında göz kapaklarında ödem ve gözyaşı akıntısı, bazen de yoğun ve köpüklü burun akıntısı görülebilir. Ateş yükselmesinin arkasından şiddetli panlökopeni gelişir. Bu durum hayvan iyileşene veya ölüm gerçekleşene kadar devam eder. Hastalık endemik olmayan bölgelerdeki sığır popülasyonlarında % 90 ve üzeri ölüm oranlarına sahiptir. Ölüm genellikle beş ile yirmibeş günlük süreç içerisinde gerçekleşmektedir. Endemik bölgelerde ise, özellikle de kabul edilebilir düzeyde kene enfestasyonuna maruz kalmış buzağılarda, hastalığın patogenezi çok hafif seyirli ve çoğunlukla subklinik enfeksiyonlar şeklindedir (Levine, 1985; Preston, 2001; Mehlhorn, 2008a). Buzağılarda ayrıca hastalığın subakut formu görülebilir. Klinik bulguların belli belirsiz şekillenebildiği hastalıkta iyileşen hayvan sayısı akut forma oranla çok daha yüksektir (Soulsby, 1982). Tüm bunların yanı sıra *T. parva* ve *T. mutans* enfeksiyonlarında bazen sinirsel semptomlar da görülebilmekte ve bu durum dönme hastalığı olarak bilinmektedir. Dönme hastalığı enfekte lenfositlerin beyin kapillar damarlarında çökelti oluşturması sonucu şekillenen anormal formda bir *T. parva* enfeksiyonudur. Klinik olarak yüksek ateş görülmeyen fakat sinirsel belirtiler gösteren bir hastalıktır (Preston, 2001; Altay ve Aktaş, 2004; Lawrence ve ark, 2006). Hastalıktan etkilenen hayvanlarda kendi etraflarında dönme hareketi ve arka bacaklarda kas çekmesi gibi belirtiler gözlenebilmektedir (Soulsby, 1982).

Lenfositlerde transformasyona yol açmayan *T. mutans* enfeksiyonlarında patogenezi tamamen eritrositlerdeki gerçekleşen piroplazm proliferasyonuna bağlı olarak şekillenmektedir. Hastalık çoğunlukla hafif karakterde olmakla birlikte bazı vakalarda anemi, ikterus ve hemoglobüri görüldüğü bildirilmiştir (Mehlhorn, 2008a).

Küçük ruminantların patojen türlerinden *T. lestoquardi* enfeksiyonlarında da benzer patogenezi ve klinik bulgular gözlenmektedir. Genellikle akut ve şiddetli seyirli, ölümlü sonuçlanabilen enfeksiyonlardır. Koyun ve keçilerdeki ölüm oranı % 46-100 arasında seyretmektedir. Enfeksiyonun subakut ve kronik formları da gözlenebilmektedir. Kuzu ve oğlakların anneden gelen antikorlar sayesinde etkene dirençli olduğu ve enfeksiyonun bu hayvanlarda çok hafif seyrettiği bildirilmektedir (Taylor ve ark, 2016).



## 2.5.2. Babesiosisde Patogenez ve Klinik Bulgular

Babesiosisde de yukarıdaki duruma benzer şekilde enfeksiyonun patogenezini ve karşılaşılan klinik belirtiler değişik şiddetlerde olabilmektedir. Bunu; enfeksiyondan sorumlu *Babesia* türünün patojenitesi ve suşunun virulans derecesi, vektör kene enfestasyon şiddeti, kene tarafından inokule edilen sporozoit miktarı, hayvanın yaşı, ırkı, gebelik durumu, aşılama yapılmış veya yapılmamış olması gibi çeşitli faktörler etkilemektedir (Levine, 1985; Uilenberg, 2001; Mehlhorn, 2008b). Hastalık genellikle şiddetli seyretmekle birlikte, yetişkin hayvanlardaki ölüm oranları gençlere göre daha yüksektir (Levine, 1985).

Hastalığın patogenezinde farmakolojik olarak aktif maddelerin salınımı ve eritrosit tahribatı önemli rol oynamaktadır. Enfeksiyondan sorumlu etkenin türüne göre patogenez mekanizmaları da farklılık göstermektedir. Örneğin *B. bigemina* enfeksiyonlarının patogenezini çoğunlukla hemolitik anemi ile ilişkili iken, *B. bovis*'in sorumlu tutulduğu enfeksiyonların patogenezinde kinin üretimi daha ön plandadır. Enfeksiyonun başlangıcından sonraki üç gün içerisinde proteolitik bir enzim olan kallikreinin plazmadaki seviyesinde dikkate değer bir artış olduğu, sonrasında kademeli olarak normal seviyelerin altına indiği gözlenmiştir (Soulsby, 1982; Mehlhorn, 2008b). Prekallikreinin aktive olarak kallikreini şekillendirmesi, periferik kan fortilerinde etkenlerin tespit edilebilir hale gelmesinden bir-iki gün kadar önce gerçekleşmekte ve bu durum enfeksiyonun başlangıcından sonraki 11-12. günlerde prekallikreinin normal seviyesinin % 10 altına inmesine kadar devam etmektedir (Boreham ve Wright, 1976). *B. ovis*'ten elde edilen bir enzimin in vitro ortamda plazma kallikreini etkinleştirdiği gözlenmiştir (Wright, 1975). Benzer şekilde sağlıklı buzağlarda intravenöz yolla verilen az miktarda *B. ovis* izolatının da kallikrein sistemini etkin hale getirdiği anlaşılmıştır (Mahoney, 1977). Bu sonuçlar akut *B. bovis* enfeksiyonlarında muazzam bir seferberlik ve kallikrein etkinliği olduğunu göstermektedir. Kallikrein; damarlarda genişleme ile damar geçirgenliğinde artışa, dolayısıyla dolaşımın durmasına ve şoka sebep olmaktadır (Soulsby, 1982). *B. ovis* enfeksiyonlarında karşılaşılan hematokrit değerindeki ilk düşüşün, eritrosit yıkımına nazaran daha çok bu durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir (Wright ve Kerr, 1975). Bunların yanı sıra kallikreinin damariçi pıhtılaşmayı tetiklediği ve bunun da sığırlarda *B. ovis* ve atlarda *B. caballi* enfeksiyonlarındaki pıhtılaşma parametrelerine yansıdığı bildirilmiştir (Soulsby, 1982). Pıhtılaşma mekanizmalarındaki aksaklıklar babesiosisin patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Sığır babesiosisinde pıhtılaşma mekanizması problemleri özellikle *B. bovis*'ten kaynaklanan enfeksiyonlarda daha dikkat çekicidir. *B. bigemina* enfeksiyonunda parazit sayısının  $10^{12}$  seviyelerine ulaşmasıyla

damar içi pıhtılaşma sorunları yaşanmaya başlarken, bu sayı *B. bovis* için  $10^9$  civarındadır. Dolayısıyla *B. bovis* enfeksiyonunda paraziteminin daha düşük olduğu durumlarda bile pıhtılaşma sorunları görülür. Buradaki problem koagülasyon süresinin azalması ve fibrinojen metabolizmasındaki değişikliklerdir. Akut vakalarda pıhtılaşma süresindeki ciddi düşüşler nedeniyle kan dolaşımında yavaşlama ve durmalar şekillenir. Bunu takiben fibrinojen konsantrasyonunda ve çözülmüş fibrin miktarında artış meydana gelerek, plazma yapışkanlığı yükselir ve eritrositler hem birbirlerine hem de damar endotellerine yapışarak yığınlar şeklinde damarları tıkamaya başlarlar. Bununla ilgili olarak da oksijen yetmezliğine bağlı çeşitli klinik tablolar şekillenebilmektedir (Wright ve Goodger, 1988).

Babesiosisde, enfeksiyonun hangi aşamada olduğuna, etkenin türüne ve hayvanın bağışıklık durumuna bağlı olarak, karşılaşılan en belirgin klinik bulgular; paraziteminin ilerlemesiyle artan 41-41,5°C'lik yüksek ateş, hemoglobinüri, anemi ve bunları takiben ikterus olarak karşımıza çıkmaktadır. Klinik belirtiler çoğunlukla sporozoitlerin inokülasyonundan sonraki bir ve ikinci haftalar arasındaki dönemde ortaya çıkmaya başlamaktadır. Tüm enfeksiyonlarda her zaman bu belirtilerin hepsi gözlenmeyebilir. Parazitin eritrositer çoğalma aşamasında enfekte olan eritrositlerin sürekli parçalanması nedeniyle hemoglobinin kan plazmasında serbest kalmakta ve belli bir seviyeye ulaştıktan sonra da idrar ile dışarı atılmaktadır (Uilenberg, 2001). Hastalığın halk arasında genellikle 'kan işeme' veya 'kızılsu' olarak bilinmesinin temel nedeni de budur. Hastalıkta klinik olarak karşılaşılan kırmızı renkli idrar tablosunda hematurisi ve hemoglobinüriyi ayırt edebilmek gerekmektedir. Burada genellikle, eritrosit tahribatı nedeniyle serbest kalan çok miktarda hemoglobinin idrarla dışarı atılması söz konusu olduğu için, idrarın kırmızı rengi zaman zaman hatalı olarak zannedildiği gibi, idrar yollarındaki bir kanamadan dolayı değil, hemoglobinuriden kaynaklanmaktadır. Şüpheli durumlarda santrifüj edilen kanın dibinde kırmızı kan hücrelerinin toplanıp toplanmadığı kontrol edilebilir. Kanama durumunda dipte yığılmış kan hücreleri görülecektir. Bununla birlikte idrar renginin, methemoglobine (hemoglobinin kahverengi, +3 değerli yükseltgenmiş demir içeren ve oksijen taşımaya uygun olmayan anormal bir formu) dönüşmüş hemoglobin oranına bağlı olarak kahverengi olabildiği bildirilmiştir (Uilenberg, 2001). Çok sayıda eritrosit tahribatının bir diğer sonucu da klinik olarak gözlenebilen şiddetli anemi tablosudur (Levine, 1985). Ancak burada enfekte eritrositlerin yanı sıra enfekte olmayan eritrositlerin de fagositoz yoluyla ortadan kaldırılabilmesine dair kanıtlar olduğu bildirilmiştir. Bu durumun *B. bovis* ve *B. bigemina* enfeksiyonlarında enfekte olmayan eritrositlerin ozmotik kırılma özelliklerinin bunları spontan olarak yıkımlanmaları için predispoze kılmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Eritrositlerin % 75 kadarı

yıkımlanabilmektedir (Mahoney, 1977). Mukoz membranlarda solgun bir görünüm dikkat çeker (Levine, 1985). Parçalanmış eritrositlerin dışına çıkarak kan plazmasında serbest kalan hemoglobinin bir kısmının karaciğere ulaşarak burada bilirubine çevrilmesi, klinik olarak bir süre sonra sarılık şekillenmesine yol açmaktadır (Uilenberg, 2001). Babesiosisle ilişkili olarak ayrıca glomerulonefritis de şekillenebileceğinden bahsedilmektedir (Soulsby, 1982). Enfeksiyondan etkilenen hayvanlarda yukarıdaki bulgulara ek olarak; halsizlik, çevreye karşı ilgisizlik, iştahsızlık, geviş getirmenin durması, belki ishal veya kabızlık, enfeksiyonun çok erken aşamaları veya perakut vakalar haricinde sarı renkli dışkı, bazen dışkıda kan izleri, verim düşüklüğü, zayıflık gibi çeşitli klinik belirtiler ve sonrasında ise ölüm görülebilmektedir. Akut olgularda ölüm 4-8 gün içerisinde gerçekleşebilir ve mortalite % 90'lara kadar çıkabilmektedir. Ölüm sadece bu belirtilerden değil, enfekte eritrositlerin veya serbest parazitlerin çeşitli organları besleyen damarları tıkanması ile organ yetmezliği sonucu da şekillenebilmektedir. Damarlardaki birikme ve tıkanma sonucu kan akımının yavaşlaması veya durması ile oksijensizlik, zehirli metabolik ürünlerin birikimi, kapillar damarlarda kırılma, eritrositlerin damar dışına çıkması ve dolayısıyla kanama tabloları meydana gelebilir (Mahoney, 1977; Levine, 1985). Ayrıca sığırlarda *B. bovis* ve köpeklerde *B. canis* enfeksiyonlarında sinirsel semptomlar da gözlenebilmektedir. Birbirine ve damar endotellerine yapışarak kümelenme eğilimi gösteren enfekte eritrositlerin beyin kapillar damarlarında birikiminden dolayı tıkanmalar ile merkezi sinir sisteminin çeşitli bölgelerindeki tahribatlar şekillenerek bu bölgelerin işlevleriyle ilgili sinirsel belirtiler ortaya çıkmaktadır (Soulsby, 1982; Uilenberg, 2001). Hiperestezi (aşırı duyarlılık), nistagmus (istemsiz göz hareketleri), diş gıcırdatma, kendi etrafında dönme, başı duvara yaslama, cinnet, ataksi, kasılma gibi belirtiler bunlardan bazılarıdır. Hastalığın ilerleyen aşamalarında kas titremeleri ve aşırı zayıflık şekillenebilir. Ayrıca her zaman karşılaşılmassa da babesiosis gebe hayvanlarda düşüklere de sebep olabilmektedir (Mehlhorn, 2008b). Tropik bölgelerde *B. major* ve *B. divergens* enfeksiyonları diğerlerine göre daha az patojen karakterlidirler. Ancak ılıman bölgelerde *B. divergens*'in çok şiddetli belirtilere ve ekonomik kayıplara sebep olduğu bildirilmektedir. Böyle vakalarda klinik olarak yüksek ateş, anemi, bilirubinuri ve hemoglobininin yanı sıra sarılık, ishal, sinirsel belirtiler ve şiddetli enfeksiyonlarda gebe ineklerde düşüklere şekillenebilmektedir (Mehlhorn, 2008b).

## 2.6. Nekropsi Bulguları

### 2.6.1. Theileriosisde Nekropsi Bulguları

*Theileria* türlerinin sorumlu olduğu hastalıklardan ölen hayvanlarda bazı farklılıklar haricinde genellikle benzer nekropsi bulgularıyla karşılaşılmaktadır (Preston, 2001). Parazitin yaşam döngüsünde omurgalı konaktaki çoğalma aşamalarının geçtiği doku ve organların etkilenmesine bağlı olarak patolojik değişiklikler gözlenebilmektedir. Bu nedenle karşılaşılan nekropsi bulguları genel anlamda lenfatik ve kan dolaşımı sistemine ilişkin olmaktadır (Neitz, 1957). *T. annulata*'nın sebep olduğu akut tropikal theileriosisten ölmüş hayvanın nekropsisinde; ilk olarak karkasın kaşektik olduğu görülür. Kan sulu, derialtı dokularda sayısız peteşi tarzında veya daha geniş kanama odakları, yutak, gırtlak, soluk borusu ve bronşlar gibi mukoz membranlar ile seröz membranlarda solgun bir görünüm, peteşiyel veya geniş kanama odakları dikkat çekicidir. Lenf yumruları belirgin şekilde büyümüş, ödemli, değişen derecelerde kanamalı, timus hafif konjesyonludur. Kalpte miyokard kasları tahrip olmuş, epikardium ve endokardiumda peteşiyel ve ekimotik (travmaya bağlı) kanamalar görülebilir. Dalakta lenfoid hiperplaziye bağlı olarak aşırı büyüme (splenomegali) ve yumuşak, belirgin malpigi cisimcikleri göze çarpar. Benzer şekilde karaciğer de aşırı büyümüş, soluk kahverenkli veya sarımsı görünümlü, gevrek ve kolay parçalanabilir kıvamdadır ve parankim dokusu tahrip olmuştur. Akciğer ödemli ve konjesyonludur. Göğüs boşluğu, perikardium ve böbrek kapsülünün altında sıvı birikimi gözlenebilir. Safra kesesi belirgin şekilde şişkin, safra koyu yeşil ve yoğun kıvamlıdır. Böbrekler soluk görünümlü, konjesyonlu ve tıkanıklığa bağlı nekrozedir. Böbrek korteksinde gri-beyaz odaklar görülebilir. Böbrek üstü bezinde korteks kanamalıdır. Hastalığa ait belki de en belirgin ve karakteristik nekropsi bulgusu abomasum mukozası üzerinde yaygın olarak karşılaşılan; ortası nekroze olmuş ve etrafı kanamalı bir alanla çevrili, sigara yanığı veya zimba deliği benzeri ülserlerdir. Abomasumdakine benzer lezyonlarla ince ve kalın bağırsak mukozalarında da karşılaşılabilmektedir. Sinir sisteminde bazen serebral kanamalar görülebilmektedir (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Preston, 2001; Taylor ve ark, 2016).

Bunlara ek olarak doğu sahili hummasında (*T. parva* enfeksiyonu); aşırı zayıf hayvanın burun deliği çevresinde köpüklü bir eksudat ve uzun süren vakalarda dehidre bir karkas görülebilir. Lenf yumruları akut vakalarda aşırı büyümüş, ödemli, hiperemik, kronik vakalarda küçülmüş ve nekrotiktir. Eğer genç bir hayvanda ölüm şekillenmişse genellikle

timus bezinde atrofi ve nekroz görülür. Kalbin perikardiumunda seröz bir sıvı birikmiş, soluk borusu ve bronşlar beyaz ve yoğun kıvamlı bir eksudat ile dolmuştur. Akciğerde interlobuler ödem, amfizem ve hiperemi tablosu dikkat çeker. Göğüs boşluğunun seröz yüzeylerinde peteşiyel ve hemorajik kanamalar ve seröz sıvı birikimi vardır. Dalak yumuşak veya kuru, şişmiş veya büzülmüş görünümündedir ve dalak kapsülü altında yaygın ekimotik kanamalar görülür. Karaciğer ve safra kesesi genellikle normal görünümündedir. Karaciğer bazen belki büyümüş ve üzeri benekli görünümde olabilir. İleum bölgesindeki lenfoid dokular olan peyer plaklarında bazen şişkinlik görülebilir. Koyun ve keçilerin kötü huylu theileriosisinde de; enfeksiyonun şiddetine göre değişmekle birlikte genel olarak yukarıda sayılan nekropsis bulgularıyla karşılaşılmaktadır (Preston, 2001; Mehlhorn, 2008a).

Ayrıca bazen sığırlarda görülen ve *T. mutans* ile *T. parva*'nın sorumlu olduğu dönme hastalığı vakalarının nekropsisinde, şizontların görüldüğü diğer bölgelerdeki lezyonlara benzer şekilde, beyin omurilik sıvısı artışı, beyin korteksinin çeşitli bölgelerinde kanın damar dışına sızması, beyinde lokalize nekrotik alanlar gibi bulgularla da karşılaşılabilmektedir (Soulsby, 1982).

## 2.6.2. Babesiosisde Nekropsis Bulguları

Babesiosis nedeniyle ölen hayvanlarda nekropsis bulguları, theileriosise benzer şekilde hastalığın patogeneziyle ilişkili olarak karşımıza çıkmaktadır. Parazitin omurgalı konaktaki gelişim aşamasının eritrositler içerisinde geçmesinden dolayı eritrosit tahribatı ve dolaşım sisteminin normal seyrinin sekteye uğramasına bağlı nekropsis bulguları görülmektedir. Babesiosisde ölüm; eritrosit tahribatına bağlı anemi, ödem ve ikterusun yanı sıra, aynı zamanda enfekte eritrosit veya serbest parazitler tarafından tıkanan kapillar damarların besleyemediği organların bozukluğu nedeniyle de gerçekleşebilmektedir. Nekropside karkas çok zayıf, anemik ve ikterik görünümlü, mukoz membranlar solgun ve ikteriktir. Deri altı ve kas içi ödem ve ikterusun yanında yağ dokusunda da sarılık görülmektedir. Kanın yoğunluğu azalmış ve sulu gibidir. Sedimente edildiği zaman kan plazmasının hemoglobinin ile dolu olduğu görülür. İdrar kesesi kırmızımsı veya kahverengimsi idrar ile doludur. Dalak çoğunlukla oldukça büyümüş, koyu kırmızı renkli ve yumuşak kıvamlıdır. Üzerinde malpigi cisimcikleri görülür. Karaciğer genişlemiş ve sarımsı kahve renklidir. Safra kesesi şişkin, içi yoğun ve koyu kıvamlı safra ile doludur. Akciğerler bazen hafif ödemli olabilir. Bazen *B. bovis* enfeksiyonlarında sinir sistemine ilişkin bulgularla da karşılaşılabilmektedir.

Hastalığın serebral formu olarak adlandırılan böyle vakalarda beyin ve omurilik boyunca gözlenebilen perivasküler, perinöral ve intersitisyel ödem tablosu karşımıza çıkabilmektedir (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Uilenberg, 2001). Ayrıca beynin gri maddesi konjesif ve tipik kırmızı renk değişikliği şekillenmiş görünümündedir (Mehlhorn, 2008b).

## 2.7. Epidemiyoloji

Theileriosis ve babesiosis; değişik patojenite ve virulense sahip farklı *Theileria* ve *Babesia* türlerinin sorumlu olduğu, çeşitli kene türlerinin bu etkenlere arakonaklık yaptığı, etken ve vektörlerin çeşitli coğrafyalarda yayılış gösterebildiği, omurgalı konak ile etken ilişkisinin ırk, yaş, aşılama gibi faktörlere göre değişiklikler gösterebildiği hastalıklardır. Dolayısıyla bu hastalıkların epidemiyolojileri üzerinde de pek çok faktör rol oynamaktadır. Parazit, ara konak ve son konağa ilişkin faktörler başta olmak üzere bölgenin coğrafi konumu ve iklimi özellikle önem arz etmektedir. Hastalıkların epidemiyolojisi üzerinde en etkili faktörler öncelikle etkenin ve vektörünün yayılışı, hastalıktan sorumlu türün patojenitesi, hastalıkta gözlenen morbidite ve mortalite oranları, toplumun sosyo-ekonomik durumu ve hayvanın hastalığa karşı duyarlı veya dirençli olması şeklinde sıralanabilmektedir (Norval ve ark, 1992; Gachohi ve ark, 2012). Ayrıca başta hayvancılık faaliyetlerinde bulunan yetiştiriciler ve konuyla ilgili çalışanlar olmak üzere bölge halkının eğitim ve bilinç seviyesi de hastalıkların epidemiyolojileri üzerindeki önemli etkenlerdendir. Bu bakımdan hayvancılık faaliyetlerinin yürütüldüğü bir bölgede hastalıktan sorumlu türlerden hangilerinin ne oranda görüldüğünün, vektörlük yapan kenelerin yaygınlığının ve yetiştiriciliği yapılan hayvan ırklarının parazite karşı direnç durumlarının olabildiğince ayrıntılı olarak bilinmesi önem arz etmektedir. Bu bilgilere göre etkene karşı aşılama stratejileri ve vektör mücadele programları oluşturulmalı, yetiştiriciler ve diğer çalışanlar bilinçlendirilmelidir.

Burada; geçmişten gelen klasik yöntemler ve zaman içerisinde teknolojinin de ilerlemesiyle geliştirilen tanı yöntemlerinin kullanıldığı çalışmaların sonuçları yardımıyla Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde sığır, koyun ve keçilerde parazitlendikleri tespit edilmiş olan *Theileria* ve *Babesia* türleri ile insanlarda parazitlenen *Babesia* türleri ve vektör kenelerin yaygınlıkları hakkında bilgi verilmeye çalışılmıştır.

### 2.7.1. Türkiye’de Sığır Theileriosisi

Türkiye’de *Theileria* türlerinin teşhisi amacıyla geçmişten günümüze, sürme kan ve lenf frotilerinin mikroskopik bakısı, kene tükürük bezlerinin geleneksel metodlarla boyanması ile hazırlanan preparatların mikroskopik incelemesi, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılmıştır. Türkiye’de sığır theileriosisinin etiyojisi ile ilgili olarak tüm coğrafi bölgelerde pek çok çalışmalar yapılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda sığırlarda; tropikal theileriosis hastalığının etkeni olan ve yüksek patojeniteye sahip *T. annulata* ile daha az patojen olan *T. buffeli/orientalis* türlerinin bulunduğu tespit edilmiştir (Altay ve ark, 2007a; Bilgin, 2007; Bilgiç, 2010; Peker, 2014).

Türkiye’de *T. annulata*’nın tespiti ilk kez 1930 yılında Samuel ve Raif tarafından yapılmıştır. Ertesi yıl Lestoquard ve Ekrem Erbin ikinci kez *T. annulata* bildiriminde bulunmuşlardır (Mimioğlu ve ark, 1969). İlerleyen yıllarda ülkenin çeşitli bölgelerinde yürütülen çalışmalar sayesinde *T. annulata*’nın yaygınlığı çeşitli tanı yöntemleri kullanılarak ortaya konmaya başlamıştır. Mikroskopik bakı yoluyla yapılan bazı çalışmalarda; Karadeniz Bölgesinde % 22,8 (Mimioğlu, 1955), % 20 (Göksu, 1970) ve % 32,8 (Dinçer ve ark, 1991), Ankara’da % 94,3 (Özcan, 1961), Ege Bölgesi’nde % 43,2 (Erkut, 1967), Marmara Bölgesi’nde % 20,7 (Tüzer, 1980), Aydın’da % 9 (Eren ve ark, 1998) oranlarında *T. annulata* yaygınlığı bildirilmiştir. Ankara’nın Polatlı ilçesindeki bir başka çalışmada *T. annulata*’nın yaygınlığı mikroskopik olarak % 31,3 oranında belirlenmiştir (Vatansever ve Nalbantoğlu, 2002). Karadeniz Bölgesi’ndeki bir çalışma kapsamında 13 ilden toplanan 542 sığıra ait kan örneklerinin mikroskopik bakısında ise % 9,2 (50/542) oranında *Theileria* piroplazmlarıyla karşılaşmıştır (Düzlü ve ark, 2011).

Türkiye’de tropikal theileriosis üzerine çeşitli bölgelerde pek çok serolojik tarama çalışması yapılmıştır. Sığır protozoonlarının tanısına yönelik Türkiye’de ilk kez ‘İmmun Floresan Antikor Testi’ (IFAT) kullanılan bir çalışmada Ankara’nın Beytepe köyünde *T. annulata*’ya karşı şekillenmiş antikor oranı % 6,4 olarak saptanmıştır (Çakmak, 1987). Yine Ankara’nın ilçelerinde yürütülen bir çalışmada IFAT yöntemi ile 1990’da % 31,7 ve 1991’de % 19’luk bir *T. annulata* yaygınlığı belirlenmiştir (Sayın ve ark, 1992). IFAT ile *T. annulata*’nın seroprevalansının araştırıldığı benzer çalışmalarda; Dinçer ve ark (1991) Samsun’da % 63, Çakmak ve Öz (1993) ise Adana’da % 10,7’lik bir pozitiflik oranı saptamışlardır. Marmara Bölgesi’nde Sayın ve ark (1994) inceledikleri 57 sığır serumunda % 10 oranında *T. annulata* seropozitifliği tespit etmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar bu kez Akdeniz Bölgesi’nde incelenen 91 sığır serumundaki *T. annulata* seropozitifliğini % 14

şeklinde saptamışlardır (Sayın ve ark, 1994). Türkiye’de *T. annulata*’nın yaygınlığının daha kapsamlı bir şekilde ortaya konmasını amaçlayan bir çalışmada, beş farklı coğrafi bölgedeki çeşitli illerden sığır kanı toplanmıştır. Serolojik inceleme sonucunda *T. annulata*’nın yaygınlığının bölgeler bazında en yüksekte en düşüğe doğru; Güneydoğu Anadolu Bölgesi (% 91,4), Karadeniz Bölgesi (% 46,8), Ege Bölgesi (% 40), Marmara Bölgesi (% 33,3), İç Anadolu Bölgesi (% 29) şeklinde sıralandığı görülmüştür. (Eren ve ark, 1995). İstanbul’daki bir çalışmada IFAT ile *T. annulata* yaygınlığı %18 bulunmuştur (Alp, 1995). Bir başka çalışmada Aydın ilinde IFAT ile incelenen 100 sığır serumunun 31 tanesinde *T. annulata* antikorlarına rastlanmıştır (Eren ve ark, 1998). Doğu Anadolu Bölgesi’nde yapılan bir başka seroprevalans çalışmasında Malatya, Elazığ ve Tunceli illerinde aşısız sığırlardan toplanan serum örnekleri IFAT yöntemi ile *T. annulata* yönünden incelenmiş ve *T. annulata* seropozitifliği Elazığ’da % 42,8, Tunceli’de % 34,8 ve Malatya’da % 17,1 olarak tespit edilmiştir (Aktaş ve ark, 2001a). Yine Doğu Anadolu Bölgesi’nde, bu kez yalnızca Malatya ilinde yürütülen bir diğer çalışmada; meraya çıkan aşıllı sığırlarda % 46,15, meraya çıkan aşısız sığırlarda % 31,48 ve meraya çıkmayan aşısız sığırlarda % 12,19 oranında *T. annulata* seropozitifliği bildirilmiştir (Aktaş ve Çakmak, 2001). Tekirdağ’da IFAT ile incelenen 426 sığır serumunun % 13,4’ünde *T. annulata*’ya karşı şekillenmiş antikorlar saptanmıştır (Alp ve Güvenen, 2001). İç Anadolu’da Ankara’nın Polatlı ilçesindeki bir başka tarama çalışmasında IFAT yöntemi ile 147 sığır serum örneği incelenmiş ve % 44,9 oranında bir *T. annulata* yaygınlığı bildirilmiştir (Vatansever ve Nalbantoğlu, 2002). Yine *T. annulata*’nın yaygınlığının IFAT yöntemi ile incelendiği bir başka çalışmada 2000 ve 2002 yıllarının Eylül ayları arasında Doğu Anadolu Bölgesi’nden Elazığ, Malatya, Bingöl, Muş, Van, Erzincan, Erzurum, Kars ile Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nden Adıyaman, Diyarbakır ve Şanlıurfa illerinde sığırlardan serum örnekleri toplanmıştır. *T. annulata* seropozitifliği yönünden iller yüksekte düşüğe; Şanlıurfa (% 81,2), Bingöl (% 64,3), Diyarbakır (% 63,8), Adıyaman (% 52,14), Elazığ (% 35,9), Muş (% 31,6), Malatya (% 22,5), Erzurum (% 2,7), Erzincan (% 10) ve Van (% 12,6) şeklinde sıralanmıştır. Kars’ta incelenen 125 sığırın tamamı negatif bulunmuştur (Dumanlı ve ark, 2002). Tropikal theileriosisle ilgili bir başka tarama çalışmasında (Sayın ve ark, 2003a) Ankara ve yöresinden 1990 ile 1993 yılları arasında üç farklı ırka ait sığırlardan toplanan örnekler incelenmiş, % 11,1 oranında piroplasmosis prevalansı belirlenirken, % 10,6 oranında ise seropozitiflik saptanmıştır. Bir başka çalışma da (Karagenç ve ark, 2005a), Aydın ilindeki dört ilçeden toplam 590 sığır üzerinde yürütülmüştür. Bunlardan 285 tanesi tropikal theileriosisle karşı aşılanmış 305’i ise kontrol olarak gözlem altında tutulmuştur. Tüm hayvanlardan dokuz ay boyunca bir kez aşılama



öncesi ve dört kez de aşılama sonrası olmak üzere toplamda beş kere kan örnekleri alınarak serumları çıkarılmış ve IFAT ile *T. annulata*'ya karşı antikor varlığı aranmıştır. Aşılama öncesi alınan serum örnekleri, makroşizont antijenleri kullanılarak yapılan IFAT ile incelenmiş; aşı grubundaki hayvanların % 11,2'sinde ve kontrol grubundaki hayvanların da % 16,1'inde *T. annulata* makroşizontlarına karşı şekillenmiş antikor saptanmıştır. Yine aşı öncesi serumlar bu kez piroplazm antijenleri kullanılarak yapılan IFAT ile incelendiğinde; aşı grubundaki hayvanların % 12,6'sında ve kontrol grubundaki hayvanların ise % 19'unda pozitiflik saptanmıştır. Aşılama sonrası (Nisan) sonuçlara bakıldığı zaman; aşı grubundaki hayvanların büyük bölümünde (% 92,7-100) makroşizont antijenine karşı pozitiflik görülürken, Eylül ve Aralık aylarında ise % 22,2 ile % 42,5 oranında seropozitiflik görülmüştür. Aşısız hayvanlarda makroşizont antijenine karşı seropozitiflik Mart ayında % 16,1 iken, Eylül ayında % 31,8'e yükseldiği görülmüştür. Aşı grubunda aşılama öncesi (mart) anti-piroplasma antijenine karşı seropozitifliğin % 7,4 ile % 20 arasında olduğu, buna karşın nisan ayında (aşılama sonrası) % 62,5 ve aralık ayında % 30,7 oranında olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda ise mart ayında anti-piroplasm seropozitiflik oranı % 10-25,6 arasında belirlenmiştir. Bu sonuçlardan aşılama ile hayvanlarda *T. annulata*'ya karşı immun yanıt şekillendiği belirlenmiş, aşılanan 16 hayvanda klinik theileriosis şekillenirken bunların birinin öldüğü, 15'inin ise tedavi edilebildiği bildirilmiştir (Karagenç ve ark, 2005a).

Akdeniz Bölgesi'ndeki bir başka çalışmada Kaya ve ark (2006) IFAT ile inceledikleri 214 sığır serumunda % 11,2 oranında *T. annulata* seropozitifliği tespit etmişlerdir. İç Anadolu'da Nevşehir'in Kapadokya bölgesinde IFAT ile taranan sığır serumlarının % 67,5'i *T. annulata* yönünden pozitif bulunmuştur (İnci ve ark, 2008). Aydın'da yürütülen bir çalışma (Aysul ve ark, 2008) kapsamında 500 sığır serumu IFAT yöntemi ile *T. annulata* yönünden incelenmiş ve dört hayvan (% 0,8) pozitif bulunmuştur. Bir diğer çalışmada (Sevgili ve ark, 2010) Şanlıurfa ili ve çevresinden toplanan 191 sığır serumu IFAT yöntemi ile incelenmiş ve % 72,25'lik bir *T. annulata* seropozitiflik oranına rastlanmıştır. Konya'nın Ereğli ilçesinde yürütülen bir seroprevalans çalışması (Güven ve ark, 2012) kapsamında ise; kan serumları IFAT ile incelenen 287 sığırın 2 tanesinde (% 0,69) *T. annulata*'ya karşı şekillenmiş antikor varlığı saptanmıştır.

Nükleik asit tabanlı tanı yöntemlerinin geliştirilmesi ve paraziter etkenler için kullanılmaya başlanmasıyla birlikte Türkiye'de de sığır theileriosisinden sorumlu türlerin yaygınlığını ortaya koymak amacıyla bu yöntemlerin kullanıldığı pek çok çalışma yürütülmüştür. Ankara'nın Polatlı ilçesinde 147 sığırdan toplanan kan örneği nested-PCR ile incelenmiş ve *Theileria* spp. oranı % 61,2 olarak saptanmıştır

(Vatansever ve Nalbantoğlu, 2002). Yine Ankara bölgesinde yürütülen bir çalışmada Türkiye’de ilk kez RLB tekniği kullanılmış ve moleküler olarak % 36,6 oranında *T. annulata*, % 11,8 oranında *T. buffeli/orientalis* ve % 8,4 oranında da miks enfeksiyon saptanmıştır. Bu çalışma *T. buffeli/orientalis*’in Türkiye’de ilk kez tespit edildiği çalışma olmuştur (Vatansever ve ark, 2002). Aydın yöresinde yürütülen başka bir çalışmada (Karagenç ve ark, 2005b) toplanan 422 adet sığır kan örneği RLB yöntemi kullanılarak *Theileria*, *Babesia*, *Ehrlichia* ve *Anaplasma* türleri yönünden incelenmiştir. Toplanan kanlardan 302 tanesi *Theileria/Babesia* türlerine özgü altı adet prob kullanılarak hazırlanan membranda test edilmiş, kalan 120 kan örneği de *Theileria/Babesia* ve *Ehrlichia/Anaplasma* türlerine özgü 36 adet prob kullanılarak hazırlanmış membranda değerlendirilmiştir. İlk membranda incelenen 302 kan örneğinin 184 tanesi *Theileria/Babesia* yönünden pozitif bulunmuş, bunların 181’inde tekli, diğer üçünde de ikili veya çoklu enfeksiyon tespit edilmiştir. Miks enfeksiyon görülen iki hayvanda *T. annulata* + *B. bovis*, bir hayvanda ise *T. annulata* + *B. bovis* + *T. buffeli* belirlenmiştir. Tekli *Theileria* enfeksiyonlarının oranları; *T. annulata* için % 50,6 ve *T. buffeli* için de % 0,99 şeklinde olmuştur. İkinci membranda incelenen 120 örneğin 112 tanesi herhangi bir tür ile enfekte bulunmuş, bunların 92 tanesi tek tür ile 20 tanesi de birden fazla tür ile enfekte bulunmuştur. Pozitif bulunan 10 örnekte *T. annulata* + *A. centrale*, iki örnekte *T. annulata* + *A. marginale*, iki örnekte *T. annulata* + *A. centrale* + *A. marginale* tespit edilirken *T. annulata*’nın görülme oranı % 30 olarak tespit edilmiştir (Karagenç ve ark, 2005b). Elazığ, Malatya, Bingöl, Muş, Van, Erzincan, Erzurum, Kars, Adıyaman, Diyarbakır ve Şanlıurfa’dan 2001 yılının Mayıs ve Ekim ayları arasında toplanan 1561 sığır kanı *T. annulata*’ya özgü primerler kullanılarak PCR ile taranmış ve tüm kanların % 37,8 (590/1561)’i pozitif bulunmuştur (Dumanlı ve ark, 2005). İllere göre yaygınlık oranları; Diyarbakır (% 74,6), Şanlıurfa (% 60,3), Elazığ (% 60,2), Bingöl (% 61,7), Muş (% 58,7), Adıyaman (% 43,1), Malatya (% 30), Van (% 27,8), Erzincan (% 6), Kars (% 3,3) ve Erzurum (% 1,4) şeklinde bulunmuştur (Dumanlı ve ark, 2005). Yine aynı bölgede 2004 yılı Haziran-Temmuz ayları arasında yürütülen bir diğer çalışmada (Aktaş ve ark, 2006) Elazığ, Bingöl, Muş, Erzincan ve Erzurum’dan toplam 252 sığırdan toplanan kan örnekleri *Theileria* türleri bakımından PCR ile taranmış ve bu hayvanların 141’i (% 45,23) en az bir *Theileria* türü ile enfekte bulunmuştur. *T. annulata* ile enfekte hayvan sayısı 99 (% 39,28) iken 18 hayvan (% 7,14) *T. sergenti/buffeli/orientalis* ile üç hayvan da (% 0,01) her iki türle birden enfekte bulunmuştur (Aktaş ve ark, 2006). Kayseri’de 300 sığır üzerinden toplanan 1160 adet kene RLB ile *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenmiş % 9,3 oranında *T. annulata* ile % 2,3 oranında *T. annulata* + *B. bigemina* ikili enfeksiyonu

tespit edilmiştir (İça ve ark, 2007a). Kayseri yöresindeki bir başka çalışmada (İça ve ark, 2007b); meraya çıkan 337 sığırdan kan örnekleri toplanarak mikroskopik bakı ve RLB ile *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından incelenmiştir. Mikroskopik bakıda 51 örnek (% 15,1) *Theileria* piroplazmaları bakımından pozitif bulunurken, RLB sonucunda, % 18,1 (61/337) oranında *T. annulata* ve % 0,9 (3/337) oranında *T. buffeli/orientalis* türlerine rastlanmıştır. İncelenen örneklerin 2 tanesinde (% 0,6) ise *T. annulata*, *B. bigemina* ile miks enfeksiyon şeklinde görülmüştür (İça ve ark, 2007b). Yine RLB'nin kullanıldığı bir diğer çalışmada (Altay ve ark, 2007a) Erzincan yöresinde 123 sığır *Theileria* türleri bakımından taranmış ve % 15,45 (19/123) oranında *T. annulata* ile % 9,76 (12/123) oranında *T. buffeli/orientalis* saptanmıştır. Trakya bölgesinde yapılan bir başka çalışmada (Bilgin, 2007); 2004-2006 yaz ayları arasında Edirne, Kırklareli, İstanbul ve Tekirdağ illerine ait 20 ilçeden toplam 230 sığır kanı toplanmış ve RLB yöntemi ile *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenmiştir. Çalışma (Bilgin, 2007) sonucunda % 2,61 (6/230) oranında *T. annulata* ve % 18,26 (42/230) oranında da *T. buffeli/orientalis*'e rastlanırken miks enfeksiyon görülmemiştir. Tokat, Amasya, Gümüşhane, Giresun, Trabzon ve Rize illerini kapsayan bir Doğu Karadeniz Bölgesi taramasında (Altay ve ark, 2008b), sağlıklı görünüme sahip toplam 389 sığırdan toplanan kan örnekleri *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından RLB yöntemi ile incelenmiştir. Çalışma (Altay ve ark, 2008b) sonucunda *T. annulata* % 1,28; *T. buffeli/orientalis* ise % 11,56 gibi yüksek bir oranda tespit edilmiştir. Ayırıcı tanıya yönelik yürütülen bir çalışmada (Altay ve ark, 2008c); *T. annulata*'nın merozoit yüzey antijen (Tams1) ve *T. buffeli*'nin major piroplasm yüzey protein (MPSP) genleri multiplex PCR yöntemi kullanılarak eşzamanlı olarak çoğaltılabileceği gösterilmiştir. Benzer bir çalışmada (Orkun ve ark, 2012); Kırşehir yöresinde 172 sığırdan toplanan kan örneğinde multiplex PCR yöntemi ile *T. annulata*'nın merozoit yüzey antijeni (Tams 1) ve *T. buffeli/orientalis*'in major piroplasm yüzey protein (MPSP) gen bölgeleri çoğaltılmıştır. Amplifikasyon sonucunda % 2,32 (4/172) oranında *T. annulata* saptanırken *T. buffeli/orientalis*'e rastlanmamıştır (Orkun ve ark, 2012). Karadeniz Bölgesi'ndeki bir çalışma kapsamında 13 ilden toplanan 542 sığıra ait kan örneklerinin RLB ile incelenmesi sonucu *T. annulata* % 2 ve *T. buffeli/orientalis* prevalansı da % 20,6 olarak bulunmuştur (Düzlü ve ark, 2011). Diyarbakır'da yürütülen bir diğer araştırmada (Deniz ve ark, 2012) sağlıklı görünümlü 100 sığırdan toplanan kan örnekleri *T. annulata* ve *T. buffeli* bakımından multiplex PCR ile incelenmiş; 23 hayvanda *T. annulata* ve bir hayvanda da *T. annulata* + *T. buffeli* ikili enfeksiyonuna rastlanmıştır. Bir diğer çalışmada (Hacılarlıoğlu, 2013) *T. annulata*'nın sitokrom-b genindeki mutasyonlar belirlenerek buparvaquon direnciyle ilişkisi araştırılmış, bu

çalışma kapsamında Aydın ilinde 200 sığırdan alınan kan örnekleri incelenmiştir. *T. annulata*'nın sitokrom-b genine özgü primerlerin kullanıldığı PCR yöntemi ile taranan 200 sığırın 49 tanesi (% 24,5) *T. annulata* yönünden pozitif bulunmuştur (Hacılarlıoğlu, 2013). Yine Ege Bölgesi'nde Aydın, İzmir ve Manisa illeri kapsamında Haziran 2006 ile Eylül 2008 tarihleri arasında sığırlardan kan örnekleri toplanarak *Theileria* ve *Babesia* türleri açısından RLB yöntemi ile araştırılmıştır (Peker, 2014). Aydın'da % 54,92 (2152/3918), Manisa'da % 48,14 (1088/2260) ve İzmir'de % 23,41 (619/2644) oranında *T. annulata*'ya rastlanmış, İzmir'de yalnızca bir hayvanda *T. annulata* + *T. buffeli* ve bir diğer hayvanda ise *T. annulata* + *B. bovis* ikili enfeksiyonları tespit edilmiştir (Peker, 2014). Karadeniz Bölgesi'nde 23'ü babesiosis klinik belirtileri gösteren 100'ü ise sağlıklı görünüme sahip 123 sığırdan alınan kan örnekleri ve üzerlerinden toplanan keneler RLB yöntemi ile taranmış ve ne kan örneklerinde ne de kenelerde herhangi bir *Theileria* türüne rastlanmamıştır (Aktaş ve Özübek, 2015).

Aydın ilinde yürütülen bir diğer çalışma (Karagenç ve ark, 2017) kapsamında ise toplam 1066 sığırdan toplanan kan örnekleri *T. annulata*'nın sitokrom-b genine özel primerler kullanılarak PCR ile taranmış ve 91 örnek (% 8,53) pozitif bulunmuştur.

Türkiye'de *T. mutans*'ın varlığıyla ilgili mikroskopik bakıya (Tüzer, 1980; Celep, 1981; Dumanlı ve Özer, 1987; Nalbantoğlu, 1996) ve deneysel çalışmaya (Güler, 1978) dayanan bazı bildirimler bulunmaktaysa da moleküler olarak tespiti yapılamamıştır (Çiçek ve ark, 2009). Vektörü olan *Amblyomma* türlerinin Türkiye'de görülmemesi de bu türün Türkiye'de tespit edilmemiş olmasını desteklemektedir.

## 2.7.2. Türkiye'de Koyun ve Keçi Theileriosisi

Türkiye'de küçük ruminant theileriosisinin etiyolojisiyle ilgili olarak etkenlerin varlığının ve yaygınlıklarının araştırılması çalışmaları da ilk olarak mikroskopik bakıya dayalı olarak başlamıştır. Göksu ve ark (1967), İç Anadolu bölgesinde inceledikleri 582 koyunda % 18,2 oranında *T. recondita*'ya (= *T. ovis*) rastladıklarını bildirmişlerdir. Özer ve ark (1993), Doğu Anadolu Bölgesi'nde yürütülen bir başka benzer çalışmada kan frotileri mikroskopik olarak incelenen 100 koyunun 3'ünde ve yine 100 keçinin 4'ünde *Theileria* spp. piroplazmaları saptanmıştır. Aynı araştırmacılar (Özer ve ark, 1993), Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ndeki çalışmada 400 koyun ve 400 keçinin her ikisinde de % 3,2 oranında pozitiflik saptamışlardır. Çankırı'da 1996 yılında yürütülen bir çalışmada (İnci ve ark, 1998); 128 koyun ve 66 Ankara

keçinin kulak uçlarından hazırlanan sürme kan frotileri mikroskopik olarak *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından incelenmiştir. İncelenen 128 koyunun 23'ü (% 17,96) ve 66 keçinin altısı (% 9,09) *Theileria* piroplazmaları bakımından pozitif bulunmuştur (İnci ve ark, 1998). Toplam 194 küçük ruminantın 35'i (% 18,04) *Theileria* pozitif bulunurken, hayvanların hiçbirinde herhangi bir klinik belirti gözlenmediği bildirilmiştir (İnci ve ark, 1998). Yine İç Anadolu Bölgesi'ndeki başka bir çalışma (İnci ve ark, 2003) kapsamında Kayseri'de 250 koyun ve 50 keçiden toplanan kan örnekleri mikroskopik olarak incelenmiş; koyunlarda % 18,4 (46/250) ve keçilerde % 8 (4/50) oranında *Theileria* piroplazmalarına rastlanmış, morfolojik ayrımları yapılamadığı için tür tayinine gidilememiştir. Yine küçük ruminant theileriosisi ile ilgili bir çalışma (Sayın ve ark, 2009) kapsamında 1997-1999 yılları arasında; Ankara, Aksaray, Çankırı, Elazığ, Van, Bingöl ve Mersin illerinden toplam 687 koyun ve 89 keçiden kan ve lenf biyopsi örnekleri alınarak mikroskopik bakı ve IFAT ile *Theileria* türleri yönünden incelenmiştir. Çalışma (Sayın ve ark, 2009) sonucunda koyunların; % 37,55'i (258/687) mikroskopik bakıda, % 60,26'sı (414/687) serolojik olarak, % 64,19'u (441/687) da hem mikroskopik hem de serolojik olarak pozitif bulunmuştur. İncelenen keçilerin ise; % 5,62'si (5/89) mikroskopik, % 8,99'u (8/89) serolojik, % 12,36'sı (11/89) da hem mikroskopik hem de serolojik olarak pozitif bulunmuştur (Sayın ve ark, 2009). Çalışmada yalnızca *T. ovis* tespit edilmiş olup, *T. lestoquardi*'ye rastlanmazken, hayvanların hiçbirinde klinik belirti gözlenmemiş ve lenf sürme preparatlarında da şizonta rastlanmamıştır (Sayın ve ark, 2009).

Türkiye'de *T. ovis*'in moleküler tanısına yönelik ilk çalışma Altay ve ark (2005) tarafından yürütülmüştür. *T. ovis*'e özgü olarak tasarlanan primerlerin kullanıldığı PCR yöntemi ile doğal enfekte ve % 0,00001 gibi düşük bir parazitemi oranına sahip koyunlarda bile *T. ovis*'in varlığı ortaya konmuştur. İncelenen 124 Akkaraman koyununa ait kan örneklerinde mikroskopik olarak % 19,35 (24/124) oranında *Theileria* piroplazmalarına rastlanırken, PCR ile 67 koyunda (% 54,03) *T. ovis* tespit edilmiştir (Altay ve ark, 2005). Yine *T. ovis*'in yaygınlığına yönelik bir başka çalışmada (Aktaş ve ark, 2005a) Elazığ'da 103 koyun ve 61 keçiden kan örnekleri toplanarak mikroskopik bakı ve PCR ile incelenmiştir. Mikroskopik bakı sonuçlarında koyunlarda % 38,83 (40/103) oranında *Theileria* piroplazmalarına rastlanırken keçilerde herhangi bir etkene rastlanmamıştır (Aktaş ve ark, 2005a). PCR sonuçlarında ise; koyunlarda % 67,96 (70/103) ve keçilerde % 1,63 (1/61) oranında *T. ovis* varlığı saptanmıştır (Aktaş ve ark, 2005a). Türkiye'de koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin RLB ile tespitinin ilk kez yapıldığı çalışmanın (İça ve ark, 2005) sonucunda Kayseri yöresinde *T. ovis*'in yaygınlığı % 34,2

olarak bildirilmiştir. Kayseri'nin Yeşilhisar bölgesindeki bir başka çalışmada (Saraylı ve ark, 2006) 200 koyun ve 100 keçiden toplanan 300 kan örneği *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından mikroskopik bakı RLB ile incelenmiştir. Mikroskopik bakıda 24 hayvanda (% 8) *Theileria* piroplazmalarına rastlanırken, RLB ile % 35,33 (106/300) oranında *T. ovis* ve % 2,34 (7/300) oranında da *T. ovis* + *B. ovis* ikili enfeksiyonu tespit edilmiştir (Saraylı ve ark, 2006). Bir diğer çalışmada (Altay ve ark, 2007c) Türkiye'nin doğusundaki 10 yerleşim bölgesinden toplanan sağlıklı görünümlü 705 koyun ve 215 keçiye ait kan örnekleri RLB tekniği ile *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenmiş ve üç *Theileria* ile bir *Babesia* türü tespit edilmiştir. Filogenetik analiz sonucu *Theileria* türlerin ikisinin *T. ovis* ve *T. sp. OT3* ve *Babesia* türünün *B. ovis* olduğu anlaşılırken, üçüncü *Theileria* türünün diğer tüm türlerden farklılık gösterdiği görülerek *T. sp. MK* ismiyle yeni bir tür olarak tanımlanmıştır (Altay ve ark, 2007c). İncelenen tüm hayvanlardaki *Theileria* enfeksiyon oranının % 36,08 (332/920) olduğu görülürken, *Theileria* türlerinin yaygınlıkları da; *T. ovis* % 34,56 (318/920), *T. sp. MK* % 1,3 (12/920) ve *T. sp. OT3* ise % 0,43 (4/920) şeklinde bulunmuştur (Altay ve ark, 2007c). *Theileria sp. MK*'ya özgü primerlerin tasarlanarak özgüllüğünün denendiği ve PCR ile RLB'nin duyarlılıklarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, aynı araştırmacıların daha önceki çalışmalarındaki (Altay ve ark, 2007c) RLB sonucuna paralel olarak, incelenen 920 koyun ve keçi kan örneğinin 12 tanesi (% 1,3) *T. sp. MK* ile enfekte bulunmuştur (Altay ve ark, 2008a). Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde *T. ovis*'in yaygınlığı ve *T. lestoquardi*'nin varlığının araştırıldığı bir çalışma (Altay ve ark, 2007b) kapsamında 656 koyun ve 139 keçiden hazırlanan kan frotileri mikroskopik muayene ile ve 677 koyun ve 142 keçiden alınan kan örnekleri ise nested-PCR yöntemi ile incelenmişlerdir. Diyarbakır, Mardin, Malatya, Muş, Erzincan, Erzurum ve Iğdır illerinden toplanan örneklerin mikroskopik muayenesinde; koyunların % 18,29'unda (120/656) ve keçilerin % 2,88'inde (4/139) *Theileria* piroplazmalarına rastlanmıştır (Altay ve ark, 2007b). PCR sonucunda ise koyunlarda % 58,79 (398/677) ve keçilerde % 11,27 (16/142) oranında *T. ovis* tespit edilirken, *T. lestoquardi*'ye rastlanamamıştır (Altay ve ark, 2007b). Orta Anadolu'da Kayseri, Sivas ve Yozgat illerini kapsayan bir diğer çalışmada (İnci ve ark, 2010) 2006-2008 yılları arasında 421 koyun ve 152 keçiden toplanan kan örnekleri yine *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından RLB ile incelenmiştir. Çalışma (İnci ve ark, 2010) sonucunda *T. ovis* ve *B. ovis* türleri ile karşılaşmıştır. Sonuçlara *T. ovis* yönünden baktığımız zaman incelenen koyunların; % 40,4'ünde (170/421) *T. ovis*, % 1,7'sinde (7/421) *T. ovis* + *B. ovis* miks enfeksiyonu bulunmuştur (İnci ve ark, 2010). Keçilerdeki duruma baktığımız zaman ise; % 9,9 (15/152) oranında *T. ovis* ve % 1,3 (2/152)

oranında da *T. ovis* + *B. ovis* miks enfeksiyonu saptanmıştır (İnci ve ark, 2010). Sonuç olarak ilgili çalışmada (İnci ve ark, 2010), *T. ovis*'in moleküler prevalansı; koyunlarda % 42 (177/421), keçilerde % 11,2 (17/152) ve toplamda % 33,9 (194/573) olarak tespit edilmiştir. Karadeniz Bölgesi'nin doğusundan Artvin, Giresun, Gümüşhane ve Tokat illerini kapsayan bir çalışmada (Altay ve ark, 2012) sağlıklı görünümdeki 128 koyun ve 73 keçiden toplanan kan örnekleri mikroskopik bakı ve RLB yöntemi ile *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından incelenmiştir. Mikroskopik olarak % 4,47 (9/201) ve RLB ile % 19,9 (40/201) oranında pozitiflik saptanmıştır (Altay ve ark, 2012). RLB sonucunda tespit edilen türlerin yüzdeleri; *T. ovis* % 18,9, *T. sp. MK* % 0,99 ve *T. sp. OT3* % 0,49 şeklinde sıralanırken bir hayvanda ise *T. ovis* + *T. sp. MK* ikili enfeksiyonu ile karşılaşmıştır (Altay ve ark, 2012). Diğer *Theileria* türleri ve herhangi bir *Babesia* türü saptanmamıştır (Altay ve ark, 2012). Koyunlardaki enfeksiyon oranı % 28,9 ve keçilerde de % 4,1 olarak bulunmuştur (Altay ve ark, 2012). Yine Karadeniz Bölgesi'nde koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin yaygınlıklarının saptanması amacıyla 2010-2011 yılları arasında 869 koyun ve 259 keçiden kan örnekleri toplanarak mikroskopik bakı ve RLB teknikleri ile incelenmiştir (Aydın ve ark, 2013). Mikroskopik muayenede 34 koyun (% 3,91) ve dört keçide (% 1,54) *Theileria* pirop plazmalarına rastlanırken, RLB sonucunda *T. ovis*, *T. sp. OT3* ve *T. sp. MK* türleri tespit edilmiştir (Aydın ve ark, 2013). Bu türlerden *T. ovis*'in koyunlarda % 34,64 (301/869), keçilerde % 10,04 (26/259), *T. sp. OT3*'ün koyunlarda % 2,65 (23/869), keçilerde % 0, *T. sp. MK*'nin ise koyunlarda % 0,58 (5/869) ve keçilerde % 0,77 (2/259) oranlarında yayılış gösterdiği saptanmıştır (Aydın ve ark, 2013). İç Anadolu Bölgesi'nde yürütülen bir araştırmada (Zhou ve ark, 2016), 13 ilçeden toplanan 343 (249 koyun + 94 keçi) küçük ruminanta ait kan örnekleri *Theileria*, *Babesia* ve *Anaplasma* türleri yönünden türe özgü PCR ile incelenmiştir. Sonuçlara *Theileria* türleri yönünden bakıldığında; % 35,9 (123/343) oranında *T. ovis* yaygınlığı görülmüştür. *T. ovis*'in miks enfeksiyonlar içerisindeki yeri ise; *T. ovis* + *B. ovis* + *A. ovis* % 2,3, *T. ovis* + *B. ovis* % 1,5, *T. ovis* + *A. ovis* % 26,2 şeklinde bulunmuştur (Zhou ve ark, 2016).

Küçük ruminantlarda parazitlenen *Theileria/Babesia* ve *Ehrlichia/Anaplasma* türlerinin moleküler olarak tarandığı bir diğer çalışma da (Bilgiç ve ark, 2017a), Ege Bölgesi'ndeki tüm iller ile birlikte diğer bölgelerden bazı illerde yürütülmüştür. Oldukça kapsamlı yürütülen bu çalışmada (Bilgiç ve ark, 2017a) Ege, Akdeniz, İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güney Doğu Anadolu bölgelerinde yer alan 19 şehirden, 1727 koyun ve 252 keçi olmak üzere toplam 1979 adet küçük ruminanttan kan örnekleri toplanmıştır. Sonrasında tüm örnekler türe özgü tekli PCR ve RLB yöntemleri ile tarama yapılmış ve ayrıca bu iki tekniğin

tanısal hassasiyetleri karşılaştırılmıştır. Çalışma (Bilgiç ve ark, 2017a) sonucunda RLB ile saptanan *Theileria* türleri; *T. ovis*, *T. luwenshuni*, *T. uilenbergi*, *T. sp. OT1*, *T. sp. OT3*, *T. separata* ve *T. sp. MK*'dir. Türe özgü PCR ile ise *T. ovis*, *T. uilenbergi*, *T. luwenshuni* ve *T. sp. MK* türlerinin varlığı gösterilmiştir. Ayrıca *T. luwenshuni*, *T. uilenbergi* ve *T. sp. OT1* Türkiye'den ilk kez bildirilmiş ve *T. separata*'nın da Türkiye'deki ilk moleküler tespiti yapılmıştır. Aynı çalışmada (Bilgiç ve ark, 2017a) Burdur ilinde çeşitli ilçelerden toplanan koyun ve keçi kan örneklerinde RLB ile tespit edilen *Theileria* türleri ve Burdur'daki yayılışları; *T. ovis* (% 62,77) ve *T. sp. OT1* (% 2,91) şeklinde iken, PCR ile tespit edilen *Theileria* türleri ve Burdur'daki yayılışları ise; *T. ovis* (% 70,8), *T. uilenbergi* (% 8,75), *T. luwenshuni* (% 2,18) ve *T. sp. MK* (% 0,72) şeklinde olmuştur.

Türkiye'de keçilerde *T. lestoquardi* (= *T. hirci*) varlığının bildirildiği bir çalışma (Hoffmann ve ark, 1971) ile karşılaşılmaktadır. Ancak, serolojik ve moleküler yöntemler ile Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin araştırıldığı çalışmalar bulunmasına karşın herhangi bir *T. lestoquardi* bildiriminde bulunulmamıştır (İnci ve ark, 2003; 2010; Altay ve ark, 2007b; Sayın ve ark, 2009; Altay ve ark, 2012; Aydın ve ark, 2013; Bilgiç ve ark, 2017a).

### 2.7.3. Türkiye'de Sığır Babesiosisi

Türkiye'de sığır babesiosisinin etiyolojik tanısına yönelik; sürme kan frotisinden mikroskopik bakı, antijen veya antikör tespitine dayalı serolojik yöntemler ve genel olarak parazite ait nükleik asitlerin tespitine yönelik moleküler tabanlı çalışmalar yürütülmüş ve yürütülmeye devam etmektedir. Bu çalışmaların sonuçları sayesinde *Babesia* türlerinin Türkiye'deki varlıkları ve çeşitli bölgelerimizdeki yaygınlıkları hakkında bilgi sahibi olmaktayız. Yapılan çalışmalar sonucu sığırlarda parazitlendiği bilinen *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens*, *B. major* ve *B. occultans*'ın Türkiye'deki varlığı ortaya konmuştur (Vatansever ve ark, 2002; Aktaş ve Özübek, 2015). Bilindiği kadarıyla sığırlarda görülen diğer türlerle ilgili her hangi bir bildirim bulunmamaktadır.

Türkiye'de bir *Babesia* türünün ilk kez İstanbul'da tespit edildiği bilinmektedir. Doktor Maurice Nicole ve Veteriner Mikrobiyolog Mustafa Adil Bey 1890 yılında sığır eritrositleri içerisinde babesiosis etkenine rastlamışlar ancak etkenin tanımlanması 30 yıl kadar sonra yapılabilmektedir (Gören ve Yetkin, 1935; Mimioğlu ve ark, 1969). Daha sonra Samuel ve Raif, Lestoquard ve İbrahim Ekrem, Gören ve Yetkin, Aysoy konuyla ilgili



çalışmalar yapmışlardır (Samuel ve M. Raif, 1930; Lestoquard ve Ekrem, 1931; Gören ve Yetkin, 1935; Aysoy, 1941). Karadeniz Bölgesi'ndeki bir çalışmada; klinik olarak piroplasmosis ve babesiosis şüphesi bulunan 37 sığır ve üç manda ile sağlıklı görünümdeki 43 sığırdan hazırlanan kan frotileri *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenmiştir. Toplam 80 hayvanın mikroskopik muayene sonuçlarına *Babesia* türleri bakımından bakıldığı zaman; üç hayvanda (% 3,75) *B. bigemina* ve yine başka bir üç hayvanda *B. bovis* tespit edilmiştir (Göksu, 1968).

Sığırlarda parazitlenen *Babesia* türlerinin varlığını ortaya koymak için Türkiye'de yapılan ilk serolojik çalışma Çakmak (1987) tarafından yürütülmüştür. Çalışma (Çakmak, 1987) kapsamında Ankara'nın Beytepe Köyü'nden 185 sığıra ait serum örneği *B. bigemina*, *B. bovis* ve *B. divergens*'e özgü antikor varlığı yönünden incelenmiştir. *B. bigemina* ve *B. bovis*'e ait seropozitiflik oranları sırasıyla % 4,7 ve % 9,7 şeklinde bulunurken, örneklerin hiçbirinde *B. divergens*'e özgü antikor saptanmamıştır (Çakmak, 1987). Takip eden yıllarda yine Ankara yöresinde yapılan bir diğer araştırmanın sonuçlarında seropozitiflik oranları *B. bigemina* için % 70,96 ve *B. bovis* için % 32,25 olarak tespit edilmiştir (Sayın ve ark, 1989). Bir başka çalışma (Dinçer ve ark, 1991) bu kez Karadeniz Bölgesi'nde yapılmış ve 76 sığıra ait serum örnekleri IFAT ile *Babesia* türleri yönünden incelenmiştir. Bu serum örneklerinde; % 61 oranında *B. bigemina*, % 46 oranında *B. bovis* ve % 75 oranında da *B. divergens*'e ait antikorlara rastlanmıştır (Dinçer ve ark, 1991). Bu çalışma aynı zamanda *B. divergens*'in Türkiye'de serolojik olarak ilk kez bildirildiği çalışma olmuştur (Dinçer ve ark, 1991). Yine Ankara'da bu defa Çubuk İlçesi'ndeki bazı sığır sürülerinde yapılan tarama çalışmasında (İnci, 1992), sığırlara ait serum örnekleri IFAT ile incelendiğinde *B. bigemina* için % 100, *B. bovis* için ise % 59 oranında seropozitiflik tespit edilmiştir. Nispeten daha bölgesel olan bu çalışmalara kıyasla daha geniş çaplı yürütülen bir başka seroprevalans çalışmasında (Düzgün ve ark, 1992), Türkiye'nin altı farklı coğrafi bölgesinden, 1986- 1989 yılları arasında toplanan 1428 adet sığır serumu ELISA testi ile *B. bovis*'e özgü antikorlar bakımından incelenerek % 51,2 oranında pozitiflik saptanmıştır. Ankara ve yöresindeki bir başka benzer çalışmada (Eren, 1993), IFAT ile incelenen sığırlarda % 49,2 *B. bigemina* ve % 10,4 *B. bovis* seropozitifliği saptanmıştır. Akdeniz Bölgesi'ndeki çalışmada (Çakmak ve Öz, 1993) ise Adana ve yöresindeki sığırlarda serolojik olarak *B. bovis*'e % 43,8 ve *B. bigemina*'ya % 55 oranında rastlanmıştır. Bir başka geniş çaplı tarama çalışmasında (Sayın ve ark, 1996) *B. bigemina* ve *B. bovis*'in seroprevalansları çeşitli bölgelerde ve şehirlerde araştırılmıştır. Bölge ve şehirlerdeki *B. bigemina* ve *B. bovis*'e ait sonuçlar sırası ile; Akdeniz Bölgesinde % 51,4, % 68,5; Orta

Anadolu'da % 80, % 41,6; Elazığ'da % 42,9, % 5,6; Adana'da % 50,8, % 31,6; Bursa'da % 48,9, % 41,8; Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde % 48,8, % 6,4 şeklinde bulunmuştur (Sayın ve ark, 1996). Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki bir diğer çalışma (Aktaş ve ark, 2001b) 1997-1998 yılları arasında yürütülmüş ve Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde sığırlarda *Babesia* türlerinin seroprevalansını belirlemek amacıyla 741 sığırdan kan örnekleri toplanmıştır. Serumların IFAT ile incelenmesi sonucunda Elazığ'da; *B. bigemina* % 31,9 (285/91), *B. bovis* % 1,4 (4/285) ve *B. divergens* % 3,5 (10/285) oranında tespit edilmiştir (Aktaş ve ark, 2001b). Malatya'da 292 sığırın 21'inde (% 7,1) *B. bigemina*, ikisinde (% 0,6) *B. divergens* görülürken, *B. bovis*'e rastlanmamıştır (Aktaş ve ark, 2001b). Tunceli'de ise incelenen 164 sığırın 12'sinde (% 7,3) *B. bigemina*, birinde (% 0,6) *B. bovis* ve ikisinde (% 1,2) *B. divergens*'e karşı şekillenmiş antikor tespit edilmiştir (Aktaş ve ark, 2001b). Tekirdağ'daki bir çalışmada Alp ve Güvenen (2001), IFAT ile inceledikleri 426 sığır serumunda % 9,9 oranında *B. bovis* pozitifliği tespit etmişlerdir. Konya'nın merkez köylerinde 1999 yılındaki bir çalışmada (Sevinç ve ark, 2001) mikroskopik bakı ve IFAT ile sığırlarda *B. bigemina*'nın yaygınlığı araştırılmış, mikroskopik bakıda % 11,46 (18/157) oranında *Babesia* piroplazmalarına rastlanırken, IFAT sonucunda ise % 53,06 (147/277) oranında *B. bigemina* seropozitifliği saptanmıştır. Kayseri yöresindeki çalışmada (İnci ve ark, 2002a) ise IFAT ile incelenen sığır serumlarının % 23,03'ünde *B. bigemina*'ya ve % 1,04'ünde de *B. bovis*'e karşı antikor şekillendiği görülmüştür. Niğde ve yöresinde incelenen sığırlarda % 30 oranında *B. bigemina* seroprevalansı saptanırken, *B. bovis*'e karşı şekillenmiş antikorla karşılaşılmamıştır (Karatepe ve ark, 2003). Ankara'daki bir başka çalışmada (İça, 2004); köylerde meraya çıkarılan bir yaştın üzerinde rastgele seçilen 300 sığırdan toplanan serum örnekleri IFAT ile incelenmiştir. Test sonucunda 22 hayvanda (% 7,33) *B. bigemina*'ya, dört hayvanda (% 1,33) *B. bovis*'e ve bir hayvanda ise (% 0,33) hem *B. bigemina* hem de *B. bovis*'e karşı şekillenmiş antikorlara rastlanmıştır (İça, 2004). Antakya yöresinde IFAT ile incelenen 214 sığır serumunun yalnızca iki tanesinde *B. bigemina*'ya karşı antikor tespit edilirken, *B. bovis* ve *B. divergens*'e özgü antikor varlığıyla karşılaşılmamıştır (Kaya ve ark, 2006). İç Anadolu'da Konya'nın Merkez, Kadınhanı, Çumra ve Beyşehir ilçelerindeki 770 sığırdan toplanan serum örneklerinde % 42,9 oranında *B. bigemina* seropozitifliği saptanmıştır (Ekici ve Sevinç, 2009). Sivas'ta 2008 yılında yürütülen bir çalışmada (Kalkan ve ark, 2010) 25 farklı köyde yapılan taramada % 13,3 (32/240) oranında *B. bovis* ve % 37,5 (45/120) oranında da *B. bigemina*'ya karşı şekillenmiş antikor varlığı görülmüştür. Şanlıurfa ve çevresinde ise IFAT ile % 43,97 oranında *B. bigemina* seropozitifliği saptanmıştır (Sevgili ve ark, 2010). Tüm ülke çapında

yürütülen bir tarama çalışmasında (Öncel ve ark, 2010) ise 2007-2008 yılları arasında 81 ilden 3773 adet sığır serumu toplanmış ve *B. bigemina* ile *B. bovis* yönünden IFAT ile incelenmiştir. Tüm Türkiye çapında incelenen 3773 sığırdan % 24,5 oranında *B. bovis*, % 16,9 oranında *B. bigemina* ve % 9,46 oranında da *B. bovis* + *B. bigemina* antikorları tespit edilmiştir (Öncel ve ark, 2010). Konya'nın Ereğli ilçesinde yürütülen bir seroprevalans çalışması (Güven ve ark, 2012) kapsamında ise; kan serumları IFAT ile incelenen 287 sığırın 100 tanesinde (% 34,84) *B. bigemina*'ya karşı şekillenmiş antikor varlığı saptanmıştır.

Teknolojinin ilerlemesiyle birlikte nükleik asit tabanlı tanı yöntemleri babesiosisin etiyojisi ile ilgili olarak Türkiye'de de kullanılmaya başlanmıştır. Türkiye'de sığır babesiosisinin etiyojisi üzerinde yapılan ilk moleküler araştırma (Tanyüksel ve ark, 2002); 1998-2000 yılları arasında Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan 464 adet sığır kan örneğinin PCR yöntemi ile incelendiği çalışma olmuştur (Tanyüksel ve ark, 2002). Bu çalışma (Tanyüksel ve ark, 2002) kapsamında ayrıca kene ısırığı şikâyeti olan ve sığırlarla yakın teması olan 28 insandan da kan örnekleri alınarak babesiosisin zoonotik önemi de araştırılmıştır. Çalışma (Tanyüksel ve ark, 2002) sonucunda incelenen sığırlarda *Babesia* türlerinin yaygınlığının; Kayseri'de % 23,8, Ankara'da % 21,12, Burdur'da % 8 ve Samsun'da % 7,21 oranında olduğu bildirilirken, insanlardan alınan örneklerin tamamı *Babesia* türleri yönünden negatif bulunmuştur. Tür bazında sonuçlara bakıldığında; *B. bovis* yaygınlığı Ankara, Burdur ve Samsun illerinde sırasıyla % 12,68, % 8, % 3,85; *B. bigemina* Ankara ve Kayseri'de sırasıyla % 8,45 ve % 23,8; *B. divergens* ise sadece Samsun'da % 3,37 oranlarında bulunmuştur. (Tanyüksel ve ark, 2002). Bir diğer moleküler tanı yöntemi olan RLB tekniğinin Türkiye'de ilk kez kullanıldığı çalışma (Vatansever ve ark, 2002) Ankara'da bölgesinde yürütülmüş ve sığırlarda *Theileria* ve *Babesia* türlerinin eş zamanlı tanısı ile epidemiyolojileri araştırılmıştır. Çalışmanın (Vatansever ve ark, 2002), *Babesia* türleri bakımından sonuçlarına baktığımız zaman; *B. bigemina* % 3,6, *B. bovis* % 2,8, *B. divergens* % 1,1 ve daha önceden mikroskopik olarak tespit edilmiş olsa da Türkiye'deki varlığı moleküler olarak ilk kez ortaya konan *B. major* % 0,2 oranında tespit edilmiştir. Yine Ankara'da yürütülen bir diğer çalışmada (İça, 2004), başkentin çeşitli köylerinde meraya çıkan ve bir yaşından büyük 300 sığırdan toplanan kan örnekleri *Babesia* türleri bakımından RLB tekniği ile taramaya tabi tutulmuştur. Tespit edilen tekli ve ikili enfeksiyonların yaygınlığı; *B. bigemina* % 4 (12/300), *B. bovis* % 2,33 (7/300), *B. divergens* % 1,66 (5/300), *B. bigemina* + *B. bovis* % 1 (3/300) ve *B. bigemina* + *B. divergens* de yine % 1 (3/300) şeklinde bulunmuştur (İça, 2004). Aydın yöresinde yürütülen başka bir çalışmada (Karagenç ve ark, 2005b) toplanan 422 adet sığır kan örneği RLB yöntemi kullanılarak

*Theileria*, *Babesia*, *Ehrlichia* ve *Anaplasma* türleri yönünden incelenmiştir. Toplanan kanlardan 302 tanesi *Theileria/Babesia* türlerine özgü altı adet prob kullanılarak hazırlanan membranda test edilmiş, kalan 120 kan örneği de *Theileria/Babesia* ve *Ehrlichia/Anaplasma* türlerine özgü 36 adet prob kullanılarak hazırlanmış membranda değerlendirilmiştir (Karagenç ve ark, 2005b). İlk membranda incelenen 302 kan örneğinin 184 tanesi *Theileria/Babesia* yönünden pozitif bulunmuş, bunların 181'inde tekli, diğer üçünde de ikili veya çoklu enfeksiyon tespit edilmiştir (Karagenç ve ark, 2005b). Miks enfeksiyon görülen iki hayvanda *B. bovis* + *T. annulata*, bir hayvanda ise *B. bovis* + *T. annulata* + *T. buffeli* görülürken *B. bovis*'in görülme oranı % 8,27 olarak belirlenmiştir (Karagenç ve ark, 2005b). İkinci membranda incelenen 120 örneğin 112 tanesi herhangi bir tür ile enfekte bulunmuş, bunların 92 tanesi tek tür ile 20 tanesi de birden fazla tür ile enfekte bulunmuştur (Karagenç ve ark, 2005b). Pozitif bulunan hayvanların beş tanesinde *B. bovis* + *A. centrale*, bir tanesinde ise *B. bovis* + *A. centrale* + *A. marginale* tespit edilirken, *B. bovis*'in prevalansı % 25 olarak saptanmıştır (Karagenç ve ark, 2005b). İç Anadolu Bölgesi'nde Kayseri ve yöresindeki sığırların kene enfestasyonu yönünden ve kenelerin de *Theileria* ile *Babesia* türleri yönünden moleküler olarak araştırıldığı bir başka çalışmada (İça ve ark, 2007a) da yine RLB tekniği kullanılmıştır. Kene enfestasyonu yönünden muayene edilen 300 sığırın 117'sinin (% 39) üzerinden toplam 1160 adet sert kene toplanmıştır (İça ve ark, 2007a). Toplanan keneler içerisinde en sık görülen türler; *R. annulatus*, *H. marginatum*, *R. turanicus* olmuştur (İça ve ark, 2007a). RLB tekniği ile eşzamanlı olarak *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenen kenelerde ise; *B. bigemina* % 14, *Babesia* spp. % 2,3 oranlarında tespit edilirken, yine % 2,3 oranında da *B. bigemina* + *T. annulata* ikili enfeksiyonuna rastlanmıştır (İça ve ark, 2007a). RLB ile tür ayrımı yapılamayan *Babesia* spp. pozitif gelen örnekler için sekans ve filogenetik analiz yapılmıştır. Analiz sonucunda; *Babesia* sp. (Kayseri)'nin filogenetik olarak, henüz tam tanımlanmamış türler olan *Babesia* sp. (Kashi 1) ve *Babesia* sp. (Kashi 2) ile *Babesia* sp. Xinjiang ve *B. occultans* ile % 96,8-100 oranlarında akrabalık ilişkisi olduğu anlaşılmıştır (İça ve ark, 2007a). Trakya'da İstanbul, Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerine bağlı 20 ilçedeki 77 yerleşim merkezinden rastgele seçilen 230 sığırdan toplanan kan örnekleri *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden moleküler olarak incelenmiştir (Bilgin, 2007). RLB ile yapılan tarama sonucunda Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerinde birer tane olmak üzere toplamda yalnızca üç sığırdan (% 1,3) *B. bovis* tespit edilirken, diğer *Babesia* türleri ile karşılaşılmamıştır (Bilgin, 2007). Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Tokat, Amasya, Gümüşhane, Giresun, Trabzon ve Rize illerini kapsayan bir başka çalışmada (Altay ve ark, 2008b), klinik olarak sağlıklı görünen 389 adet

sığırdan kan örnekleri toplanarak RLB yöntemi ile *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenmiştir. Analiz sonucunda *Babesia* türlerinin incelenen hayvanlardaki yaygınlığının oldukça düşük bir oranda seyrettiği görülmüştür (Altay ve ark, 2008b). Buna göre; incelenen 389 hayvanın üç tanesinde (% 0,77) *B. bigemina*, ikisinde (% 0,51) *B. major* ve beşinde de (% 1,28) *Babesia* spp. ile karşılaşılrken, bir hayvanda ise (% 0,25) *B. bigemina* + *T. buffeli/orientalis* ikili enfeksiyonu tespit edilmiştir (Altay ve ark, 2008b). Aynı illeri kapsayan bir diğer çalışma (Aktaş ve ark, 2012), 2007-2008 yıllarında yürütülmüş ve Tokat, Amasya, Gümüşhane, Giresun, Rize ve Trabzon'da sığırlardan toplanan kenelerde *Theileria*, *Babesia* ve *Anaplasma* türleri araştırılmıştır. Bu amaçla toplanan 2160 adet erişkin kenenin 1062 tanesinden 224 adet kene havuzu oluşturularak RLB tekniği ile incelenmiş ve *Babesia* türleri yönünden hiçbir örnekte türe özgü problemlerle bir eşleşme olmamış, yalnızca cins bazında % 4,46 oranında *Babesia* spp. tespit edilmiştir (Aktaş ve ark, 2012). Bununla birlikte bir örnekteki *Babesia* türünün sekans analiz sonucu % 99 oranında *B. occultans*'a benzerlik göstermesine karşın 346 nükleotidin net bir şekilde analiz edilememesinden dolayı kesin bir sonuç ortaya konamamıştır (Aktaş ve ark, 2012). Karadeniz Bölgesi'ndeki bir çalışmada (Düzlü ve ark, 2011), 13 ilden (Amasya, Artvin, Bartın, Bolu, Çorum, Giresun, Karabük, Kastamonu, Ordu, Samsun, Tokat, Trabzon, Zonguldak) meraya çıkan toplam 542 sığırdan kan örneği toplanarak *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenmiştir. Mikroskopik incelemede % 1,7 (9/542) oranında *Babesia* pirop plazmalarıyla karşılaşılrken, RLB ile türlerin bu bölgedeki yaygınlıkları; *B. bovis* için % 1,8 ve *B. bigemina* için ise % 2,2 şeklinde bulunmuştur (Düzlü ve ark, 2011). RLB sonucunda *B. bovis* olduğu tespit edilen 10 örneğin sekans analizleri yapılarak merozoit yüzey antijeni kodlayan gen dizilimleri Dünya'da kayıtlı diğer sekanslarla karşılaştırılmıştır (Düzlü ve ark, 2011). Kıyaslama sonucunda 10 örneğin kendi aralarında % 94-99 oranında identik oldukları belirlenmiştir (Düzlü ve ark, 2011). Bu örneklerin Dünya'daki diğer örneklerle kıyaslaması yapıldığında ise msa-2c grubundaki sekanslarla % 89-99 oranında benzerlik gösterdikleri görülmüştür (Düzlü ve ark, 2011). Bir diğer benzer çalışmada (Yavuz ve ark, 2011); Ege ve Marmara Bölgeleri'ndeki Aydın, Balıkesir, İzmir, Kütahya, Bursa, Çanakkale, İstanbul, Kocaeli ve Sakarya'dan oluşan dokuz ilden toplam 235 sığıra ait kan örnekleri mikroskopik bakı ve RLB yöntemi ile *Babesia* türleri yönünden incelenmiştir. Mikroskopik bakıda örneklerin hiçbirinde *Babesia* pirop plazmalarına rastlanmazken, RLB sonucunda ise yalnızca Aydın'daki bir sığırdan *B. bovis*'e rastlanmıştır (Yavuz ve ark, 2011). Bu sonuçla; incelenen 235 sığır içerisindeki *B. bovis* yaygınlığı % 0,42 oranında bulunmuştur (Yavuz ve ark, 2011). Tespit edilen *B. bovis* izolatının msa-2c geninin sekans analizi yapılarak Türkiye'deki ve Dünya'daki kayıtlı diğer

sekanslarla kıyaslanmıştır (Yavuz ve ark, 2011). İncelenen bu Aydın izolatu ile Türkiye'deki diğer izolatların msa-2c gen sekansları arasında % 91-92, Dünya'daki diğer izolatları ile arasında ise % 89-96 oranında benzerlik belirlenmiştir (Yavuz ve ark, 2011). Bir diğer çalışmada (Yıldırım ve ark, 2013) ise Türkiye'nin farklı illerindeki sığırlardan daha önce farklı projelerde kullanılmak üzere toplanmış ve laboratuarda muhafaza edilen 400 adet kan örneği RLB, nested PCR ve real time PCR teknikleri ile analiz edilmiş ve sığırlarda *B. bovis* ve *B. bigemina*'nın moleküler teşhisinde bu tekniklerin kıyaslanması amaçlanmıştır. RLB sonuçlarına göre incelenen örneklerin toplam 18'inin (% 4,5) *B. bovis*, 59'unun (% 14,75) *B. bigemina*, 16'sının (% 4) *Babesia* spp. ve ikisinin (% 0,5) *B. bovis* + *B. bigemina*; nested PCR ile 23'ünün (% 5,75) *B. bovis*, 71'inin (% 17,75) *B. bigemina* ve yedisinin (% 1,75) *B. bovis* + *B. bigemina*; real time PCR ile 23'ünün (% 5,75) *B. bovis*, 75'inin (% 18,75) *B. bigemina* ve dokuzunun (% 2) ise *B. bovis* + *B. bigemina* ile miks enfekte olduğu belirlenmiştir (Yıldırım ve ark, 2013). Real time PCR tekniği ile kıyaslanması sonucu nested PCR tekniğinin % 94,4 duyarlılık ve % 100 özgüllük gösterdiği; RLB tekniğinin ise % 88,8 duyarlılık ve % 100 özgüllüğe sahip olduğu belirlenmiştir (Yıldırım ve ark, 2013). RLB testinde *Babesia* spp. belirlenen 16 örneğin hem real time PCR hem de nested PCR'da beşinin *B. bigemina*, dokuzunun *B. bovis*, ikisinin ise *B. bovis* + *B. bigemina* ile miks enfekte olduğu saptanmıştır (Yıldırım ve ark, 2013). Sonuç olarak bu çalışma ile sığırlarda *B. bovis* ve *B. bigemina*'nın araştırılmasında real time PCR yönteminin nested PCR ve RLB tekniklerine oranla daha duyarlı olduğu belirlenmiştir (Yıldırım ve ark, 2013). Ege Bölgesi'de Aydın, İzmir ve Manisa illerinden 2006-2008 yılları arasında toplanan sığır kan örneklerinde *Theileria* ve *Babesia* türlerinin varlıkları ve yaygınlıkları araştırılmıştır (Peker, 2014). RLB hibridizasyon tekniği ile elde edilen sonuçlara göre; *B. bovis* ile enfekte örnek oranı, Aydın'ın Yenipazar ilçesinde % 3,78; İzmir'in Tire ilçesinde % 6,63, Aliğa ilçesinde % 0,51; Manisa İli Alaşehir ilçesinde % 0,34 olarak tespit edilmiştir (Peker, 2014). Aydın'dan toplanan tüm örnekler içerisindeki *B. bovis* oranı % 0,97, İzmir'de % 3,67 ve Manisa'da ise % 0,19 olmuştur (Peker, 2014). Aydın il ve ilçelerinde *B. bigemina* enfeksiyonu saptanmamış; fakat İzmir'in Kınık ilçesinde (% 1,45) ve Manisa'nın Alaşehir ilçesinde (% 0,34) *B. bigemina* tespit edilmiştir (Peker, 2014). Ayrıca İzmir Tire'deki bir örnekte *B. bovis* + *T. annulata* ikili enfeksiyonu ile karşılaşılmıştır. (Peker, 2014). Karadeniz Bölgesi'nde 23'ünde klinik babesiosis gözlenen fakat diğer 100 tanesi sağlıklı görünüme sahip toplam 123 sığırdan kan ve üzerlerinden kene örnekleri toplanarak kan örnekleri mikroskopik olarak ve hem kan hem de kenelerden elde edilen DNA'lar RLB yöntemi ile *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından incelenmiştir (Aktaş ve Özübek, 2015). RLB sonucunda; sağlıklı hayvanların 13 tanesi (% 13)

*Babesia* yönünden pozitif bulunmuş ve üç *Babesia* türü tespit edilmiştir (Aktaş ve Özübek, 2015). Türlerin yaygınlıkları; *B. bovis* % 9 (9/100), *B. occultans* % 3 (3/100) ve *B. bigemina* % 1 (1/100) oranlarında bulunurken bir hayvanda da (% 1) *B. bigemina* + *B. bovis* ikili enfeksiyonuyla karşılaşmıştır (Aktaş ve Özübek, 2015). Klinik olarak babesiosis belirtileri gösteren 23 sığırdan bir tanesinin ise *B. divergens* ile enfekte olduğu tespit edilmiş ve bunun Türkiye’de sığırlarda *B. divergens*’ten kaynaklanan ilk klinik babesiosis vakası olduğu bildirilmiştir (Aktaş ve Özübek, 2015). Erzurum’da yürütülen bir çalışmada (Düzlü ve ark, 2015) ise sığırlarında *B. bovis* ve *B. bigemina* yaygınlığının Real Time PCR ile araştırılması ve saptanan izolatların moleküler karakterizasyonlarının yapılması amaçlanarak, *B. bovis* ve *B. bigemina* için sırasıyla msa-2c ve rap-1 gen bölgelerine özgü primerlerle Sybergreen ve TaqMan prob bazlı Real Time PCR analizleri gerçekleştirilmiştir. İncelenen 300 kan örneğinin 28’inde (% 9,3) *B. bovis*, 17’sinde (% 5,7) *B. bigemina* saptanmıştır. Örneklerde miks enfeksiyona rastlanmamıştır (Düzlü ve ark, 2015). *B. bovis* pozitiflerden dördünün, *B. bigemina* pozitiflerden üçünün msa-2c ve rap-1 gen bölgelerine göre sekans analizleri yapılmıştır. *B. bovis* izolatlarının ikili hizalama analizlerinde kendi aralarında, Türkiye’den diğer bazı ve dünyadaki diğer izolatlarla aralarında sırasıyla % 0,6, % 2,3 ve % 7,5 genetik farklılık belirlenmiştir (Düzlü ve ark, 2015). *B. bigemina* izolatlarının kendi aralarında % 0,3 ve dünyadaki diğer izolatlarla aralarında % 0,5 genetik farklılık saptanmıştır (Düzlü ve ark, 2015). *B. bovis* ve *B. bigemina* yönünden pozitif belirlenen örneklerin parazit türü temel alınarak sığırların yaş, cinsiyet ve ırk özelliklerine göre istatistiksel analizlerinde; yaş ve ırk özelliklerine göre istatistiksel bir farklılık belirlenmemiştir ( $p>0,05$ ) (Düzlü ve ark, 2015). Cinsiyete bağlı farklılık; *B. bovis* için önemsiz ( $p>0,05$ ), *B. bigemina* için ise önemli ( $p<0,05$ ) bulunmuştur (Düzlü ve ark, 2015).

Sığırlarda parazitlenen *Babesia* türlerinin Türkiye’deki yaygınlıkları ile ilgili yukarıda verilen çalışmaların yanı sıra bazen sporadik babesiosis vakaları şeklinde bildirimler de bulunmaktadır. Endemik bölgelerde dokuz aylıktan küçük buzağılarda kolostral antikorlar ve doğal bağışıklığa bağlı olarak genelde akut babesiosis pek rastlanmamaktadır. Bu dönemde etkenlere maruz kalınması durumunda ise bağışıklık daha da güçlenmekte ve ömür boyu bağışık kalılabilmektedir. Konya’daki bir vakada (Sevinç ve ark, 2005) ise; akut babesiosisten dolayı doğumdan bir gün sonra ölen holştayn ırkı bir ineğin buzağısında 11 günlük iken *B. bigemina* tespit edilmiştir. Buzağı annesinden hiç kolostrum alamadığı için hastalığın seyrinin çok şiddetli olduğu ve tipik akut babesiosis belirtileri gözlenmiştir (Sevinç ve ark, 2005). Etiyolojik ve destek tedavisine cevap vermeyen ve 12 günlükken ölen buzağının nekropsisinde de tipik babesiosis bulguları ile karşılaşıldığı bildirilmiştir

(Sevinç ve ark, 2005). Kenelerle nakledilen *Babesia* türleri, kenenin mevsimsel etkinliği ile paralel olarak, çoğunlukla sıcaklığın arttığı bahar-yaz aylarında hastalığa yol açmaktadırlar. Ankara'daki bir vakada (Kar ve ark, 2008) ise, hava sıcaklığının sıfırın altında olduğu ve kar yağışının görüldüğü şubat ayında babesiosis olgusu ile karşılaşmıştır. İki bin sekiz yılının şubat ayında Ankara'nın Altındağ ilçesinde, hemoglobinuri ve ateş şikâyetleri görülen bir sığırcılık işletmesinde 50 sığırın kuyruk ucundan hazırlanan kan frotileri incelenmiş ve dört hayvanda (% 8) *B. bigemina* piroplazmalarına rastlanmıştır (Kar ve ark, 2008). Ahırda ayrıca yüksek parazitemiye sahip hayvanlardan birinin üzerinden bir adet dişi *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* izole edilmiştir (Kar ve ark, 2008). Türkiye'de sığır babesiosisinin en önemli vektörü olan *R. (B.) annulatus*'un meskene yerleşebilme özelliğinden ötürü soğuk mevsimlerde de gözlenebileceği, dolayısıyla da vektör olarak naklettiği hastalıkların mevsim dışı görülebilme olasılığının göz ardı edilmemesi gerektiği vurgulanmıştır (Kar ve ark, 2008). Yine benzer bir vakada (Şahal ve ark, 2009); 2005 yılının şubat ayında Ankara'nın Çubuk ilçesinde 41°C ateş ve hemoglobinuri görülen dört adet sığırın kuyruk ucu kan frotilerinde *B. bigemina* ile karşılaşmış ve imidokarb dipropionat ile tedavi edilmişlerdir. Bir diğer babesiosis vakası (Muz ve ark, 2013) da Hatay'dan bildirilmiştir. Ateş (40,5°C), öksürük, hırıltılı solunum, depresyon gözlenen ve annesinden yeteri kadar kolostrum emdiği belirtilen dokuz günlük bir buzağının perifer kan frotisinde *Babesia* piroplazmalarına rastlandığı, teşhisi takiben imidokarb ve vitamin takviyesi ile başarılı bir şekilde tedavi edildiği bildirilmiştir (Muz ve ark, 2013).

#### **2.7.4. Türkiye'de Koyun ve Keçi Babesiosisi**

Türkiye'de hayvancılık faaliyetleri içerisinde önemli bir yeri olan koyun ve keçi yetiştiriciliğinin başta gelen hastalıklarından olan babesiosisin etiyolojisine yönelik yıllar içerisinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Önceleri mikroskopik bakıya dayalı olarak yapılan tarama çalışmalarının yanına zamanla serolojik ve moleküler tanı yöntemlerinin kullanıldığı çalışmalar da eklenmiştir. Günümüzde hala Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde benzer tarama faaliyetleri devam etmekte ve *Babesia* türlerinin yaygınlıklarıyla ilgili daha sağlıklı veriler ortaya konmaya çalışılmaktadır (Sayın ve ark, 1997; 2009; İnci ve ark, 1998; 2010; Altay ve ark, 2007c; 2012; Aydın ve ark, 2013; Zhou ve ark, 2016; Bilgiç ve ark, 2017a).

Bu amaçla Konya'nın Merkez, Çumra, Beyşehir ve Sarayönü ilçelerinden 1994-1995 yıllarının Mayıs ayları arasında toplanan 723 adet koyun kanından hazırlanan sürme kan



frotilleri *Babesia* piroplazmaları yönünden incelenmiş ve % 11,47 (83/723) oranında *B. ovis* piroplazmalarıyla karşılaşmıştır (Sevinç ve Dik, 1996). Çankırı yöresinde yürütülen bir başka benzer çalışmada (İnci ve ark, 1998), 1996 yılının Temmuz-Ekim ayları arasında 128 koyun ve 66 Ankara keçisi olmak üzere toplam 194 küçük ruminant kanından hazırlanan sürme frotiller *Theileria* ve *Babesia* piroplazmaları yönünden incelenmiştir. Mikroskopik bakı sonuçları *Babesia* yönünden incelendiği zaman; 128 koyunun 35'inde (% 27,35) ve 66 keçinin sekizinde (% 12,12) *B. ovis* tespit edilmiştir (İnci ve ark, 1998). Koyunların dördünde (% 3,12), keçilerin ikisinde (% 3,03) ise *B. ovis* + *Theileria* spp. miks enfeksiyonu saptanmıştır (İnci ve ark, 1998). Sonuç olarak toplam 194 küçük ruminantdaki *B. ovis* oranı % 25,25 (49/194) şeklinde bulunmuştur (İnci ve ark, 1998). Malatya yöresindeki bir çalışmada (Aktaş ve ark, 2001c), değişik yaş ve ırklardaki 220 koyuna ait sürme kan frotisi incelenerek % 1,8 (4/220)'lik bir *B. ovis* pozitifliği saptanmıştır. Kayseri'deki benzer çalışmada (İnci ve ark, 2002b), Mayıs 1998-Eylül 2000 tarihleri arasında 192 koyun ve 47 keçiden toplanan kanlarla hazırlanan sürme preparatlar *Babesia* türleri yönünden incelenmiştir. İncelenen koyunlarda % 17,7 (34/192), keçilerde % 6,38 (3/47) dolayısıyla tüm küçük ruminantlarda % 15,48 (37/239) oranlarında *B. ovis* pozitifliği tespit edilmiştir (İnci ve ark, 2002b). Frotillerin hiç birinde *B. motasi*'ye rastlanmazken, hayvanların hiç birinde de klinik babesiosis gözlenmemiştir (İnci ve ark, 2002b). Ayrıca hayvanların üzerinden toplanan kenelerden hazırlanan preparatlarda da *Babesia* türlerinin gelişme formları tespit edilememiştir (İnci ve ark, 2002b). Afyon yöresinde 2000 yılında yapılan çalışmada (Çiçek ve ark, 2004), kulak ucu kan frotilleri incelenen 204 Akkaraman ırkı koyunun yalnızca bir tanesinde (% 0,49) *B. ovis*'e rastlanmıştır. Elazığ'da mikroskopik bakı ile perifer kan frotilleri taranan 68 koyunun üçünde (% 4,41) ve 30 keçinin birinde (% 3,33) *Babesia* piroplazmalarına rastlandığı bildirilmiştir (Aktaş ve ark, 2005b). Kayseri'nin Yeşilhisar ilçesi merkez ve köylerinde yapılan çalışmada (Saraylı ve ark, 2006), perifer kan frotilleri incelenen 200 koyunun sekizinde (% 4) ve 100 keçinin birinde (% 1) *Babesia* piroplazmaları saptanmıştır. Küçük ruminantlardaki toplam prevalans % 3 (9/300) olarak tespit edilmiştir (Saraylı ve ark, 2006). Doğu Anadolu Bölgesi'nde sekiz farklı yerleşim bölgesindeki 37 sürüden toplanan 300 koyun ve 100 keçiye ait kan örneklerinden hazırlanan sürme preparatların muayenesinde % 1,5 (6/400) oranında *Babesia* piroplazmalarına rastlanmıştır (Aktaş ve ark, 2007). Karadeniz Bölgesi'nde 128 koyun ve 73 keçiye ait kan örneklerinden hazırlanan sürme frotillerin *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelendiği bir diğer çalışmada (Altay ve ark, 2012), frotillerin hiç birinde *Babesia* türlerine ait piroplazmalarla karşılaşılmamıştır. Yine Karadeniz Bölgesi'ndeki başka bir çalışmada (Aydın ve ark, 2013)

da, benzer şekilde, incelenen 869 koyun ve 259 keçiye ait kan frotilerinin hiçbirinde *Babesia* piroplazmlarına rastlanmamıştır.

Türkiye’de küçük ruminant babesiosisinin etiyojisi ile ilgili serolojik çalışmalardan birinde (Sevinç ve Dik, 1996); Konya’nın dört farklı ilçesinden toplanan 700 adet koyuna ait serum örneği ELISA testi ile *B. ovis* yönünden incelenmiş ve % 42,14 (295/700) oranında pozitiflik saptanmıştır. Aynı zamanda pozitiflik oranının en yoğun olarak Temmuz ayında ve 1-2 yaş grubundaki hayvanlarda görüldüğü bildirilmiştir (Sevinç ve Dik, 1996). Bir diğer tarama çalışmasında (Sayın ve ark, 1997b), Türkiye’nin dört farklı coğrafi bölgesindeki çeşitli illerden toplamda 452 koyun serumu toplanarak IFAT yöntemi ile *B. ovis* yönünden incelenmiştir. Araştırma sonucunda bölgelere göre *B. ovis*’in yaygınlığı; Karadeniz Bölgesi’nde % 71,6 (101/141), İç Anadolu Bölgesi’nde % 70,9 (66/93), Ege Bölgesi’nde % 80,2 (77/96) ve Doğu Anadolu Bölgesi’nde ise % 55,7 (68/122) oranlarında bulunmuştur (Sayın ve ark, 1997b). Malatya’daki bir çalışmada (Aktaş ve ark, 2001c), ELISA yöntemi ile taraması yapılan 220 koyunda % 55,9 (123/220) *B. ovis* yönünden seropozitiflik saptanmıştır. Seropozitiflik oranının bir yaşına kadarki kuzularda % 49,2, bir yaşından büyük koyunlarda ise % 59 olduğu bildirilmiştir (Aktaş ve ark, 2001c). Afyon’da yürütülen çalışma (Çiçek ve ark, 2004) kapsamında; koyun serumları ELISA ile incelenmiş ve % 51,96 (106/204) oranında *B. ovis* seropozitifliği saptanmıştır. Konya’nın 17 yerleşim bölgesinden 2010 ve 2011 yıllarının Mayıs ayları arasında toplanan farklı yaş gruplarındaki 2000 koyuna ait serum örnekleri IFAT ile incelenmiş ve 843 hayvanda (% 42,15) *B. ovis* seropozitifliği saptanmıştır (Ekici ve ark, 2012). Sonuçlar yaş gruplarına göre incelendiğinde; 0-3 ay % 31,9; 4-6 ay % 31,64; 6-9 ay % 47,69; 10-12 ay % 40,22 ve 12 aylık üzeri grupta ise % 52,99 oranında pozitiflik görülmüştür (Ekici ve ark, 2012).

Türkiye’de koyun ve keçilerde parazitlenen *Babesia* türlerinin moleküler yöntemler kullanılarak teşhisine yönelik bir çalışmada (Aktaş ve ark, 2005b), *B. ovis*’e özgü primer çifti tasarlanarak PCR yöntemi ile tarama çalışması yapılmıştır. Elazığ yöresinde yürütülen bu çalışmada 98 küçük ruminantın (68 koyun, 30 keçi) 21 tanesinde (19 koyun, iki keçi) (% 21,42) *B. ovis*’e özgü gen bölgesi başarıyla çoğaltılmıştır (Aktaş ve ark, 2005b). Ayrıca bu çalışmanın sonuçlarında PCR’in duyarlılığı bakımından; *B. ovis* ile enfekte hayvanlarda % 0,00001 parazitemi oranında bile etkenlerin PCR ile tespit edilebildiği bildirilmiştir (Aktaş ve ark, 2005b). Kayseri’de küçük ruminantlarda parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin yaygınlıklarının RLB yöntemi ile araştırıldığı bir çalışmada (İça ve ark, 2005), *B. ovis*’in moleküler prevalansı % 2,7 oranında bulunmuştur. Yine Kayseri’nin bu defa Yeşilhisar ilçesinde yürütülen bir çalışmada (Saraylı ve ark, 2006), koyun ve keçilerden

toplanan kan örnekleri RLB yöntemi ile taranmıştır. İncelenen 200 koyunun üç tanesinde *B. ovis*, beş tanesinde *B. ovis* + *T. ovis* saptanırken, 100 keçinin ise birinde *B. ovis* ve ikisinde *B. ovis* + *T. ovis* bulunmuştur (Saraylı ve ark, 2006). Dolayısıyla Yeşilhisar yöresinde *B. ovis*'in yaygınlığı moleküler olarak; koyunlarda % 4 (8/200), keçilerde % 3 (3/100) ve toplamda da % 3,7 (11/300) olarak saptanmıştır (Saraylı ve ark, 2006). Doğu Anadolu Bölgesi'nde sekiz farklı yerleşim bölgesindeki 37 sürüden toplanan 300 koyun ve 100 keçiye ait kan örnekleri *B. ovis* yönünden PCR ile taranmış ve 300 koyunun 32'si (% 10,66) ile 100 keçinin bir tanesinde (% 1) *B. ovis* saptanmıştır (Aktaş ve ark, 2007). Bu sonuçlara göre küçük ruminantlardaki toplam *B. ovis* yaygınlığı ise % 8,25 (33/400) olarak bulunmuştur (Aktaş ve ark, 2007). Bir diğer çalışmada (Altay ve ark, 2007c), Türkiye'nin doğusundaki 10 yerleşim bölgesinden toplanan sağlıklı görünümlü 705 koyun ve 215 keçiye ait kan örnekleri RLB tekniği ile *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenmiş ve *B. ovis* yaygınlığı % 5,43 (50/920) oranında saptanmıştır. Orta Anadolu'da Kayseri, Sivas ve Yozgat illerindeki bazı çiftliklerden Ocak 2006-Eylül 2008 tarihleri arasında 421 koyun ve 152 keçiden toplanan kan örnekleri *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından RLB yöntemi ile taranmıştır (İnci ve ark, 2010). Sonuçlara *Babesia* türleri açısından bakıldığında incelenen koyunlardan beşi (% 1,2) *B. ovis* ve yedisi (% 1,7) *B. ovis* + *T. ovis* ile enfekte bulunmuştur. Keçilerin ise; biri (% 0,7) *B. ovis* ve ikisi (% 1,3) *B. ovis* + *T. ovis* ile enfekte bulunmuştur (İnci ve ark, 2010). Sonuç olarak; *B. ovis*'in moleküler prevalansı koyunlarda % 2,9 (12/421), keçilerde % 2 (3/152) ve toplamda % 2,6 (15/573) olarak tespit edilmiştir (İnci ve ark, 2010). İki bin beş yılının Mayıs ve Eylül ayları arasında Karadeniz Bölgesi'nde Artvin, Gümüşhane, Giresun ve Tokat illerindeki 26 sürüden sağlıklı görünüme sahip 128 koyun ve 73 keçi kanı RLB yöntemi ile *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenmiş ve hiçbir *Babesia* türü saptanamamıştır (Altay ve ark, 2012). Yine Karadeniz Bölgesi'nde yedi ili (Bolu, Kastamonu, Çorum, Samsun, Tokat, Giresun, Bayburt) kapsayan bir çalışmada (Aydın ve ark, 2013), 869 koyun ve 259 keçiden oluşan toplam 1128 küçük ruminanttan toplanan kan örneklerinin *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden RLB yöntemi ile taraması yapılmıştır. Sonuçlar *Babesia* türleri yönünden incelendiğinde; 869 koyunun beş tanesinde (% 0,58) *B. ovis* saptanırken, keçilerde *Babesia* türüne rastlanmamış, bu sonuçlarla bölgedeki incelenen tüm küçük ruminantlardaki *B. ovis* yaygınlığı % 0,44 (5/1128) oranında bulunmuştur (Aydın ve ark, 2013). İç Anadolu Bölgesi'nde yürütülen bir araştırmada (Zhou ve ark, 2016), 13 ilçeden toplanan 343 küçük ruminanta (249 koyun + 94 keçi) ait kan örnekleri *Theileria*, *Babesia* ve *Anaplasma* türleri yönünden türe özgü PCR ile incelenmiştir. Sonuçlara *Babesia* türleri yönünden bakıldığı zaman; % 5,2 oranında *B. ovis* yaygınlığı tespit edilmiştir.

*B. ovis*'in miks enfeksiyonlardaki rolüne bakıldığı zaman ise; *B. ovis* + *T. ovis* + *A. ovis* % 2,3, *B. ovis* + *T. ovis* % 1,5 ve *B. ovis* + *A. ovis* de % 0,6 oranlarında bulunmuştur (Zhou ve ark, 2016).

Geniş kapsamlı olarak yürütülen bir çalışmada (Bilgiç ve ark, 2017a), Ege Bölgesi ağırlıklı olmak üzere Akdeniz, İç Anadolu, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde bulunan 19 ilden toplanan 1727 koyun ve 252 keçiye ait kan örnekleri RLB ve tekli PCR yöntemleri ile *Theileria/Babesia* ve *Ehrlichia/Anaplasma* türleri yönünden incelenmiştir. Sonuçlar *Babesia* türleri bakımından incelendiğinde moleküler olarak tespit edilen türler *B. ovis* (% 0,4), *B. crassa* (% 4) ve *B. motasi* (% 0,1) olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışma ile *B. crassa* ve *B. motasi*'nin Türkiye'deki varlığı ilk kez moleküler bir tanı yöntemi ile teyit edilmiştir (Bilgiç ve ark, 2017a).

### 2.7.5. İnsanlarda Babesiosis ve Türkiye'deki Yaygınlığı

Babesiosisin Dünya'nın pek çok bölgesinde özellikle sığır ve küçük ruminant yetiştiriciliğinin önemli problemlerinden biri olmasının yanında, hayvanlara özgü olduğu düşünülen bazı türlerin zoonoz özellik göstererek insanlarda da parazitlenebilmeleri nedeniyle son yıllarda insan sağlığını da tehdit etmekte olduğu bilinmektedir. Bağışıklık sistemi normal çalışan sağlıklı bireylerde babesiosis çok nadiren tespit edilebilmektedir çünkü çoğunlukla klinik belirtiyeye yol açmadan veya kendiliğinden iyileşen çok hafif belirtilerle seyreklenmektedir. Buna karşın; yeni doğanlar ve bebeklerde, yaşlılarda, dalağı alınmış veya başka bir şekilde bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde ise ölümcül olabilen enfeksiyonlar şekillenebilmektedir. Dünya'da; ABD, bazı Avrupa ülkeleri, Mısır, Hindistan, Japonya, Kore, Tayvan ve Güney Afrika'da görülen insan babesiosisi vakaları bildirilmiştir (Gray ve ark, 2010). Günümüze kadar Dünya'nın çeşitli yerlerinde zoonoz karakterde olan yedi farklı *Babesia* türü saptanmıştır. İnsanlarda parazitlendiği bilinen bu türler; *B. microti* (WA-1 ve MO-1 suşları), *B. divergens*, *B. bovis*, *B. canis*, *B. duncani*, *B. venatorum* (EU-1) ve KO-1 türleridir (Hildebrandt ve ark, 2007; Gray ve Weiss, 2008; Hunfeld ve ark, 2008; Vannier ve Krause, 2009; Colwell ve ark, 2011). Amerika'da ağırlıklı olarak ve Asya ile Avrupa'da ise daha nadiren karşılaşılan babesiosis etkeni kemirgenlerin bir paraziti olan *Babesia microti*'dir. İkinci önemli zoonoz olan tür, Avrupa'da şiddetli vakalara sebep olan *B. divergens*'tir (Centeno-Lima ve ark, 2003; Vannier ve Krause, 2009; Nakajima ve ark, 2009). Ayrıca *B. duncani* Amerika'dan (Herwaldt ve ark, 1996;

Conrad ve ark, 2006) ve *B. venatorum* da Avusturya, Almanya ve İtalya'dan bildirilmiştir (Herwaldt ve ark, 2003; Telford ve Goethert, 2004; Gray, 2006). Çeşitli kene türlerinin *Babesia* türlerine vektörlük yaptıkları bilinmekle birlikte; ABD'de *Ixodes scapularis* ve Avrupa *I. ricinus* insandan kan emebilen en önemli vektörler olarak bildirilmişlerdir (Yabsley ve Shock, 2012; Gabrielli ve ark, 2016).

Türkiye'den de bildirilmiş çeşitli insan babesiosis vakaları ve tarama çalışmaları bulunmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda Türkiye'de insan babesiosisinden sorumlu olarak *B. bovis*, *B. divergens* ve *B. microti*'nin mevcudiyetleri ortaya konmuştur (Gün ve ark, 1996; Poyraz ve Güneş, 2010; Kaya, 2011). Türkiye'de ilk defa insanlarda *Babesia* türlerine karşı antikor varlığının ortaya konduğu çalışma (Gün ve ark, 1996), 1996 yılında yürütülmüştür. Ankara'nın Kızılcahamam bölgesindeki araştırmada kene ısırma şikâyeti bulunan 50 insandan toplanan kan serumları IFAT yöntemi ile incelenmiş ve % 8 oranında (4/50) *B. divergens* ile % 2 (1/50) oranında *B. bovis*'e karşı seropozitiflik tespit edilmiştir (Gün ve ark, 1996). Yine kene ısırması şikâyeti olan insanlarda babesiosis tespiti amacıyla yapılan bir diğer çalışma (Kalkan ve ark, 2010) da Sivas yöresinde yürütülmüş, IFAT yöntemiyle incelenen 150 insan serumunda *Babesia bovis*'e karşı % 5,33 (8/150) oranında IgG ve % 0,66 (1/150) oranında IgM antikorları saptanmıştır. Seropozitifliğin cinsiyete göre dağılımına bakıldığında; erkeklerde % 1,9 (1/54) ve kadınlarda % 7,4 (7/96) oranlarında pozitiflik görülmüştür (Kalkan ve ark, 2010). Yaş gruplarına göre pozitiflik oranında ise en yüksek değer % 13 (3/23) ile 60 yaş üzerinde görülürken, 20-40 yaş arasında % 7,5 (3/40) ve 40-60 yaş arasında da % 3,4 (2/58) oranlarında seropozitiflikle karşılaşılmıştır. Yirmi yaşına kadar olan 29 insanda ise *B. bovis*'e karşı şekillenmiş antikora rastlanmamıştır (Kalkan ve ark, 2010). Zoonoz türlerden *B. microti*'ye karşı şekillenmiş antikor varlığının insanlarda ortaya konduğu Türkiye'deki ilk çalışma (Poyraz ve Güneş, 2010) ise, 2006-2007 yıllarının Mayıs ve Haziran aylarında Sinopta yürütülmüştür. *B. microti*'nin vektörü olduğu bilinen *I. ricinus*'a sıklıkla rastlanılan Sinop'ta kırsal bölgelerde yaşayan 273 insandan toplanan serum örnekleri IFAT yöntemi ile incelenerek % 6,23 (17/273) oranında seropozitiflik tespit edilmiştir (Poyraz ve Güneş, 2010). Erkeklerdeki pozitiflik oranı % 7,57 (10/132) iken kadınlarda bu oran % 4,97 (7/141) şeklinde bulunmuştur. Yaş gruplarındaki dağılıma bakıldığında zaman en yüksek yüzdenin % 9,38 (3/32) ile 51-60 yaş grubunda olduğu, 21-30 yaş grubundaki 40 insanda ise pozitiflik tespit edilemediği bildirilmiştir (Poyraz ve Güneş, 2010). Meslek gruplarındaki dağılım; orman işçilerinde % 11,76, çobanlarda % 8,88 ve hayvancılıkla ilgilenenlerde diğer insanlarda % 5,03 şeklinde olmuştur. Kene tutma öyküsü bulunan 169 kişiden 13'ünde (% 7,69) seropozitiflik tespit edilirken, kene tutma öyküsü bulunmayanlarda

ise % 3,85 (4/104)'lik oranda pozitiflik saptanmıştır (Poyraz ve Güneş, 2010). Bir diğer bildirimde; İnci ve ark (2013), Tatvan yöresinde yaşayan ve kene ısırığı hikâyesi olan insanlarda babesiosisin yaygınlığının araştırıldığı bir çalışmaya (Kaya, 2011) atfen insanlarda % 18 oranında *B. bovis* seropozitifliği saptandığını belirtmektedirler.

## 2.7.6. Türkiye’de Vektör Kenelerin Yaygınlığı

Yaşam döngülerini tamamlamak ve bir omurgalı konaktan diğerine nakledilebilmek için, heteroksen gelişim gösteren diğer pek çok parazit gibi *Theileria* ve *Babesia* türleri de arakonaklarının varlığına ihtiyaç duymaktadırlar. Dolayısıyla bu parazitlerin sebep oldukları hastalıkların epidemiyolojisindeki en önemli konulardan biri de hiç kuşkusuz ara konak olan kenelerin bölgedeki yayılış durumlarıdır. Dünya’da olduğu gibi Türkiye’de de kene türlerinin varlıklarının ve yayılışlarının araştırıldığı pek çok çalışma bulunmaktadır. Bilindiği kadarıyla Türkiye’de bugüne kadar tespit edilen kene türleri; *Ixodes ricinus*, *I. hexagonus*, *Amblyomma variegatum*, *Haemaphysalis parva*, *Hae. punctata*, *Hae. sulcata*, *Hae. inermis*, *Hae. concinna*, *Hae. numidiana*, *Hae. cretica*, *Hyalomma aegyptium*, *H. anatolicum*, *H. excavatum*, *H. marginatum*, *H. scupense (=detrutum)*, *H. dromedarii*, *H. turanicum*, *H. impeltatum*, *H. rufipes*, *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*, *R. (B.) kohlsi*, *R. bursa*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *Dermaacentor marginatus*, *D. niveus*, *Ornithodoros lahorensis*, *Argas persicus*, *A. reflexus* ve *Otobius megnini* şeklinde sıralanabilmektedir (Yukarı ve Umur, 2002; Aydın ve Bakırcı, 2007; Dumanlı ve ark, 2012). Bunlarla ilgili yapılan tarama çalışmalarından bazıları aşağıda verilmeye çalışılmıştır.

Ülke genelinde yürütülen kapsamlı bir çalışmanın (Kurtpınar, 1954) sonucunda; *I. ricinus*, *H. excavatum*, *H. marginatum*, *H. scupense (=detrutum)*, *R. bursa*, *R. sanguineus*, *R. (B.) annulatus*, *D. marginatus*, *Hae. concinna*, *Hae. punctata*, *Hae. parva* ve *Hae. sulcata* olmak üzere 12 tür tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada (Merdivenci, 1969), Türkiye’nin farklı coğrafi bölgelerinde sığırlarda *O. lahorensis*, *I. ricinus*, *H. anatolicum*, *H. marginatum*, *H. scupense (=detrutum)*, *R. bursa*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *R. (B.) annulatus*, *D. marginatus*, *D. niveus*, *Hae. concinna*, *Hae. inermis*, *Hae. parva* ve *Hae. sulcata*; koyun ve keçilerde *O. lahorensis*, *I. ricinus*, *H. scupense (=detrutum)*, *H. anatolicum*, *H. marginatum*, *R. bursa*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *R. (B.) annulatus*, *R. (B.) kohlsi*, *D. marginatus*, *D. niveus*, *Hae. concinna*, *Hae. inermis*, *Hae. parva*, *Hae. punctata*, *Hae. sulcata* türleri

bildirmiştir. Van ve ilçesi Gevaş' taki bir çalışmada (Taşçı, 1989); muayene edilen 3850 sığırın 2376'sı (% 61,71) *R. bursa*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *H. scupense* (=detritum), *H. anaticum*, *H. excavatum*, *Hae. parva* ve *D. marginatus*; 3878 koyunun 2464'ü (% 63,53) *R. bursa*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *H. scupense* (=detritum), *H. anaticum*, *H. excavatum*, *Hae. parva*, *O. lahorensis* ve *D. marginatus* türleri ile enfeste bulunmuştur.

Kars yöresinde sığırlar üzerinde parazitlenen kene türlerinin araştırıldığı bir çalışmada (Arslan ve ark, 1999), Kasım 1996 – Ekim 1997 tarihleri arasında muayene edilen 645 sığırın 228'inde (% 35,3) kene enfestasyonu tespit edilmiştir. Toplanan kene türleri ve yüzdeleri; *R. (B.) annulatus* (% 0,9), *D. marginatus* (% 18,8), *D. niveus* (% 2,2), *Hae. parva* (% 14), *H. punctata*, (% 3), *H. excavatum* (% 2), *H. marginatum* (% 3,9), *I. ricinus* (% 0,2) ve *R. bursa* (% 0,2) şeklinde bulunmuştur (Arslan ve ark, 1999). Diğer bir çalışma (Aktaş ve Dumanlı, 2001), Malatya'da Mayıs 1998-Ocak 1999 tarihleri arasında yürütülmüş ve Malatya yöresinde sığırlarda ve barınaklarında *Hyalomma* soyuna bağlı kene türlerini ve bu kenelerdeki *T. annulata* enfeksiyonlarını saptamak amacıyla yapılmıştır. Araştırma süresince sığırların□ üzerinden ve hayvan barınaklarından kene toplanmış ve tür teşhisleri yapılmış ayrıca kenelerin tükürük bezleri disseke edilmiş ve bunlardan preparatlar hazırlanmış ve metilen yeşili ve pironin yöntemi ile boyanmıştır. Sığırların□ üzerinden toplanan *Hyalomma* soyuna bağlı 1633 keneden 990'ının (% 60,6) *H. anaticum*, 485'inin (% 29,6) *H. excavatum*, 155'inin (% 9,4) *H. scupense* (=detritum) ve üçünün de (% 0,1) *H. marginatum* olduğu tespit edilmiştir (Aktaş ve Dumanlı, 2001). Bunlardan 720 *H. anaticum*, 258 *H. excavatum* ve 87 *H. scupense* (=detritum) diseke edilmiş ve *T. annulata* ile enfeksiyon oranlarının; *H. anaticum*'da % 12,4; *H. excavatum*'da % 7,8 ve *H. scupense* (=detritum)'de % 4,6 olduğu saptanmıştır (Aktaş ve Dumanlı, 2001). Hayvan barınaklarında sadece *H. anaticum*'a rastlanmış ve diseke edilen 443 adet *H. anaticum*'un % 18,7'sinde enfeksiyon belirlenmiştir. Enfekte kenelerdeki ortalama enfekte asini sayıları, sığırlardan toplanan *H. anaticum*'un erkeklerinde 9,2, dişilerinde 15,4; *H. excavatum*'un erkeklerinde dört, dişilerinde 6,8; *H. scupense* (=detritum)'nin dişilerinde 42,1 ve hayvan barınaklarından toplanan *H. anaticum*'un erkeklerinde 9,3, dişilerinde 4,9 olarak belirlenmiş, *H. scupense* (=detritum)'nin erkeklerinde enfeksiyon tespit edilememiştir (Aktaş ve Dumanlı, 2001). Van yöresi koyunlarında enfestasyon oluşturan kene türlerinin mevsimsel aktivitelerini ve yaygınlıklarını belirlemek amacıyla yürütülen bir çalışmada (Akdemir, 2001), ünitelere her ay düzenli olarak gidilmiş ve 15 koyunun bütün vücut bölgeleri dikkatlice araştırılmıştır. Koyunların % 43,51'i kenelerle enfeste bulunmuş ve 2383 adet kene toplanmıştır. Bu türlerden; *R. bursa* 748 (% 31,39), *R. turanicus* (% 11,24),

*R. sanguineus* (% 7,26), *R. bursa* nimfi 170 (% 7,13), *R. bursa* larvası 204 (% 8,26), *H. excavatum* 11 (% 0,4), *H. aegyptium* yedi (% 0,3), *H. marginatum* dokuz (% 0,3), *Haemaphysalis punctata* 22 (% 0,9), *Hae. sulcata* 17 (% 0,7), *Hae. parva* 552 (% 23,16), *D. marginatus* 49 (% 2) ve *D. niveus* 48 (% 0,2) adet toplanmıştır (Akdemir, 2001). Enfestasyonlar Van Merkez'de % 63,88, Gevaş'ta % 65, Muradiye'de % 57,22, Erciş'te % 56,11, Özalp 'ta % 11,11, Saray'da % 7,77 olarak tespit edilmiştir. Rakımı 2000 m olan Saray ilçesi ile 2200 m olan Özalp ilçesinde *Rhipicephalus* türlerine rastlanılmamıştır (Akdemir, 2001). Araştırmanın yapıldığı süre içerisinde yıllık ortalama sıcaklık 9,4°C, ortalama nispi nem % 58,03 ve toplam yağış miktarının 300,4 mm<sup>3</sup> olarak tespit edilmiş ve bu iklimsel şartlarda 11 kene türünün bulunduğunu saptanmıştır (Akdemir, 2001). *Rhipicephalus* ve *Haemaphysalis* türlerinin koyunları önemli ölçüde enfeste ettiği, bu türlerden *Rhipicephalus* spp. ilkbahar, yaz ve sonbaharda, *Haemaphysalis* spp. ise sonbahar, kış ve ilkbaharda tespit edilmiştir. *D. niveus* Van bölgesindeki koyunlarda ilk kez bulunmuştur (Akdemir, 2001).

Bir başka çalışma (Yukarı ve Umur, 2002), Türkiye'nin hayvancılık faaliyetleri konusunda önde gelen illerinden biri olan Burdur ve yöresindeki sığır, koyun ve keçilerde enfestasyon oluşturan kene türleri ile bunların mevsimsel aktivitelerini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Araştırma, 1 Eylül 1999 - 31 Ağustos 2000 tarihleri arasında Burdur merkez ve merkeze bağlı 14 yerleşim biriminde sığır, koyun ve keçiler üzerinde yürütülmüştür. Araştırma süresince 756 sığır, 996 koyun ve 698 keçi muayene edilmiş ve sığırlar üzerinden 863 (59'u nimf), koyunlar üzerinden 1846 (146'si nimf) ve keçiler üzerinden 571 (2'si nimf) olmak üzere toplam 3280 (207'si nimf) adet kene toplanmıştır. Koyun meskenlerinde de 42 (sekiz dişi + 34 nimf) adet kene bulunmuştur (Yukarı ve Umur, 2002). Sığırlarda *R. turanicus* (% 52,9), *R. (B.) annulatus* (% 34,2), *Hae. parva* (% 4,3), *D. marginatus* (% 0,9), ve *H. marginatum* (% 0,8); koyunlarda *R. turanicus* (% 71,9), *R. bursa* (% 10,9), *Ornithodoros lahorensis* nimf (% 7,9), *Hae. parva* (% 5,4), *D. marginatus* (% 2,9), *D. niveus* (% 0,8), *H. excavatum* (% 0,05), *I. ricinus* (% 0,05) ve *Rhipicephalus* spp. nimf (% 0,05); keçilerde ise *R. turanicus* (% 63,6), *D. niveus* (% 20,3), *D. marginatus* (% 12,6), *Hae. parva* (% 3,1) ve *Rhipicephalus* spp. nimf (% 0,4) türlerinin enfestasyon oluşturduğu saptanmıştır (Yukarı ve Umur, 2002). Koyun ağıllarında *O. lahorensis* bulunmuştur. Araştırma yapılan 12 aylık sürede enfestasyon oranı; sığırlarda % 21,8; koyunlarda % 25,4 ve keçilerde % 15,8 olarak belirlenmiştir (Yukarı ve Umur, 2002).



Ankara ve yöresinde yapılan çalışmada (Sayın ve ark, 2003b), sığırlar üzerinden toplanan kenelerin tür tayini sonucunda *H. anatolicum*, *H. excavatum*, *H. scupense* (=detritum) ve *H. marginatum* türleri tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada (Sayın ve ark, 2003b) en çok kene enfestasyonunun yaşlı sığırlarda görüldüğü, genç sığırlarda ve buzağılarda ise kene enfestasyonu oranının oldukça düşük olduğu bildirilmiştir. Bir diğer benzer çalışma (Yay ve ark, 2004), Kayseri yöresindeki sığır ve koyunlar üzerinde parazitlenen kene türlerinin belirlenmesi amacıyla Ocak-Kasım 2002 tarihleri arasında Kayseri merkeze bağlı beş köy, beş ilçe merkezi ve beş ilçeye bağlı altı köy olmak üzere toplam 16 yerleşim bölgesinde yürütülmüştür. Çalışma (Yay ve ark, 2004) süresince 1245 koyun ve 512 sığır kene enfestasyonu yönünden incelenmiş, koyunların 263 tanesinde (% 21), sığırların ise 87 tanesinde (% 17) kene enfestasyonu belirlenmiştir. Enfeste hayvanların üzerinden; 1452'si koyunlardan, 612'si ise sığırlardan olmak üzere toplam 2064 adet erişkin kene toplanmıştır (Yay ve ark, 2004). Koyunların üzerinden toplanan türler ve yüzdeleri *R. turanicus* (% 64,32), *R. sanguineus* (% 15,7), *D. marginatus* (% 6,12), *H. anatolicum* (% 5,16), *Hae. sulcata* (% 5,02), *R. bursa* (% 2,34) ve *O. lahorensis* (% 1,31) şeklinde iken, sığırların üzerinden de *R. (B.) annulatus* (% 32,03), *H. anatolicum* (% 23,53), *R. turanicus* (% 23,2), *D. marginatus* (% 5,88), *R. sanguineus* (% 5,07), *R. bursa* (% 3,1), *Hae. parva* (% 2,78), *H. scupense* (=detritum) (% 1,96), *Hae. sulcata* (% 1,31) ve *H. a. excavatum* (% 1,14) türleri toplanmıştır (Yay ve ark, 2004). Antalya'da yürütülen epidemiyolojik bir çalışma (Tuncer ve ark, 2004) kapsamında bir yıllık süreyle keçilerdeki kene enfestasyonları izlenmiş ve en yaygın türlerin sırasıyla; *R. bursa*, *I. ricinus*, *D. marginatus*, *Hae. parva* ve *Hae. sulcata* olduğu bildirilmiştir. Elazığ ve Malatya illerinde 1993-1999 yılları arasında yürütülen çalışmada (Aktaş ve ark, 2004) ise, 2388 sığır ve 442 barınak kene enfestasyonu açısından muayene edilerek; sığırların üzerinden 4581 ve barınak duvarlarından 2874 olmak üzere toplam 7455 adet kene toplanmıştır. Barınaklardan toplanan kenelerin tamamının *H. anatolicum* olduğu görülürken, sığırlar üzerinden toplanan kenelerin % 63,1'i (2895/4581) *H. anatolicum*, % 23,8'i (1047/4581) *H. excavatum*, % 11,7'si (536/4581) *H. scupense* (=detritum) ve % 0,6'sı (3/4581) da *H. marginatum* olarak tanımlanmıştır (Aktaş ve ark, 2004). Sığırlardan toplanan 3362 ve barınaklardan toplanan 2447 kene ise diseke edilerek tükürük bezi preparatları hazırlanıp, metilen yeşili-pironin metoduyla boyanmış ve *Theileria* türlerinin gelişim aşamaları yönünden incelenmiştir (Aktaş ve ark, 2004). Boyaması yapılan *H. anatolicum* türlerinin barınaklardan toplanan 1150 (% 46,9) ve sığırlardan toplanan 412 (% 19,1) tanesi *Theileria* enfeksiyonu yönünden pozitif bulunmuştur. Sığırlardan toplanan diğer türlerdeki enfeksiyon oranları; *H. excavatum*

için % 2,4 (20/820) ve *H. scupense (=detritum)* için de % 4,6 (23/495) şeklinde olmuştur (Aktaş ve ark, 2004). Sığırlardan toplanan enfekte kenelerdeki ortalama enfekte asini sayıları erkek ve dişiler için sırasıyla; *H. anaticum*'da 11,3 ve 22,4; *H. excavatum*'da dört ve 6,8; *H. scupense (=detritum)*'de 17,9 ve 18,3 şeklindedir. Barınaklardan toplanan *H. anaticum* türleri için ise bu sayılar erkek ve dişilerde sırasıyla; 11,8 ve 17,6 şeklinde bulunmuştur (Aktaş ve ark, 2004).

İç Anadolu Bölgesi'nde tropikal theileriosisün aşılama sonrası epidemiyolojisi üzerine yapılan bir çalışma (Sayın ve ark, 2005) kapsamında; 1996 yılının Mart ayı ile 1999 yılının Nisan ayı arasında sığırlar üzerinden toplanan *H. anaticum* ve *H. excavatum*'un tükürük bezlerinden hazırlanan preparatlarda *T. annulata*'nın sporoblastları ile karşılaşılmıştır. Doğu Karadeniz illerinden Gümüşhane'ye bağlı Kelkit Vadisi'nde sığır, koyun ve keçilerde *R. bursa*, *H. marginatum*, *R. (B.) annulatus* ve *Hae. sulcata* olmak üzere dört farklı türün bulunduğu ve en yaygın türlerin *R. bursa* (% 47,68) ve *H. marginatum* (% 46,4) olduğu bildirilmiştir (Tonbak ve ark, 2006). Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki bir çalışmada (Aktaş ve ark, 2006); Elazığ, Erzurum, Bingöl, Muş ve Erzincan illerinde 252 sığırın üzerinden toplam 724 adet kene toplanmış ve tür tayinleri yapılmıştır. Buna göre tespit edilen türler ve yüzdeleri; *H. anaticum* % 32, *H. excavatum* % 25, *R. (B.) annulatus* % 19, *R. bursa* % 15 ve *R. sanguineus* % 8 şeklinde olmuştur (Aktaş ve ark, 2006). Kayseri yöresinde yürütülen çalışma (İça ve ark, 2007a) kapsamında muayene edilen 300 sığırın 117 'sinde (% 39) kene enfestasyonu tespit edilmiş ve bu hayvanlar ile barınaklarından toplam 1160 adet kene toplanarak tür tayinleri yapılmıştır. Tespit edilen türlerin yüzdeleri; *R. (B.) annulatus* % 26,4 (306/1160), *H. marginatum* % 21,1 (245/1160), *R. turanicus* % 18,7 (217/1160), *H. anaticum* % 9,4 (109/1160), *Hae. parva* % 9,1 (106/1160), *H. scupense (=detritum)* % 5,9 (69/1160), *H. excavatum* % 4,6 (53/1160), *R. bursa* % 2,4 (28/1160), *D. marginatus* % 1,7 (20/1160), *Hae. sulcata* % 0,3 (4/1160) ve *R. sanguineus* % 0,3 (3/1160) şeklinde olmuştur (İça ve ark, 2007a). Bu kenelerden 43 adet kene havuzu oluşturularak RLB tekniği ile *Theileria* ve *Babesia* türleri açısından taranmışlar ve 43 havuzdan altısında (% 14) *B. bigemina*, dördünde (% 9,3) *T. annulata*, birinde (% 2,3) *Babesia* spp., ve yine birinde (% 2,3) de *T. annulata* + *B. bigemina* tespit edilmiştir (İça ve ark, 2007a).

Aydın'da yürütülen tropikal theileriosisün yaygınlığı ve aşı etkinliğinin araştırıldığı bir çalışma (Aysul ve ark, 2008) kapsamında hayvanların üzerinden ve ahırlardan toplam 1248 adet kene toplanmıştır. Tür tayin işlemleri sonucunda *H. scupense (=detritum)* (408 erkek, 494 dişi), *H. anaticum* (59 erkek, 9 dişi),

*H. marginatum* (58 erkek, 10 dişi), *R. sanguineus* (18 erkek, 5 dişi), *R. (B.) annulatus* (14 erkek, 128 dişi, 45 nimf) türlerinin ergin ve nimfleri tespit edilmiştir (Aysul ve ark, 2008). Yalnızca Çine (dört ahır) ve Nazilli'de (bir ahır) ahırda aç olgun kenelere (*H. scupense* (=detritum)) rastlanmıştır. Duvardan toplanan kenelerde farklı oranlarda *T. annulata* enfeksiyonuna rastlanmıştır. Çine'deki ahırlarda kenelerin enfeksiyon yüzdeleri % 10 (2/20), % 15 (3/20), % 20 (4/20), % 50 (10/20) şeklinde iken Nazilli'deki ahırda ise % 40 (8/20) kenede enfeksiyona rastlandığı bildirilmiştir (Aysul ve ark, 2008).

Van'da yürütülen bir çalışma (Yılmaz ve Değer, 2011) ise, Van ili mezbahasına kesim için getirilen sığır ve koyunlarda ve Erciş ilçesinde sığır ve koyunlarda kene enfestasyon durumunun tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışma (Yılmaz ve Değer, 2011) kapsamında 2009 Mart - 2010 Nisan ayları arasında 2518 adet koyun ve 398 adet sığır kene yönünden muayene edilmiş, koyunların % 70,8'inin, sığırların ise % 37,5'inin kene ile enfeste olduğu bulunmuştur. Toplanan 2518 kenenin % 27'si *D. marginatus*, % 20,2'si *R. bursa*, % 20,2'si *Hae. parva*, % 17,7'si *R. turanicus*, % 5'i *R. sanguineus*, % 2,8'i *Hae. punctata*, % 2,8'i *Hae. sulcata*, % 1,1'i *H. anatolicum*, % 1'i *D. niveus*, % 0,5'i *H. egypticum*, % 0,5'i *H. marginatum*, % 0,4'ü *H. excavatum*, % 0,2'si *Ornithodoros lahorensis* ve % 0,2'si *Argas persicus* olarak bulunmuştur (Yılmaz ve Değer, 2011). Çalışma bölgelerinde tespit edilen *Rhipicephalus* türleri yaz aylarında yoğun görülmesine karşın, kış aylarında tespit edilememiştir. *Haemaphysalis* türleri sonbahar ve kış aylarında yoğun olarak görülmüştür. *Dermacentor* türleri ilkbahar, sonbahar ve kış aylarında görülmüş ve *Hyalomma* türlerinin tamamı yaz aylarında tespit edilmiştir (Yılmaz ve Değer, 2011).

Ankara'da insanlar üzerinden toplanan 5094 adet kenenin incelendiği çalışmada (Karaer ve ark, 2011); kenelerin 5077 tanesinin ixodid ve 17 tanesinin de argasid olduğu ve en sık karşılaşılan türlerin *Hyalomma*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* ve *Haemaphysalis* soylarına bağlı türler olduğu bildirilmiştir. *Hyalomma* soyundaki en çok görülen iki gelişim aşaması ise; nimf (% 29,8) ve erişkinler (% 28,2) olarak saptanmıştır (Karaer ve ark, 2011).

Karadeniz Bölgesi'ndeki bir çalışmada (Aktaş ve ark, 2012); 389 sığırdan üzerinden 2160 adet kene toplamış ve bunların; *H. marginatum*, *H. excavatum*, *H. scupense* (=detritum), *R. bursa*, *R. turanicus*, *R. sanguineus*, *R. (B.) annulatus*, *Hae. sulcata*, *Hae. punctata*, *I. ricinus* ve *I. hexagonus* türlerine ait oldukları bildirilmiştir. Batı Ege Bölgesi'nde Aydın, İzmir ve Manisa illerine bağlı dokuz köyde Haziran 2006-Mayıs 2008 yılları arasında yürütülen çalışmada (Bakırcı ve ark, 2011); 443 sığırdan 19 679 adet erişkin kene toplanmıştır. Mikroskop altında yapılan tür teşhisleri sonucunda; *H. marginatum* (% 37,39), *H. excavatum* (% 18,89), *H. scupense* (=detritum) (% 13,68), *H. anatolicum* (% 0,86) ve

*H. rufipes* (% 0,07) türlerinin varlığı saptanmıştır. Bu çalışma ile Türkiye’de sığırlarda *H. rufipes*’in varlığının doğrulandığı ve ülkenin Batı Ege bölgesindeki varlığının da ilk kez gösterildiği bildirilmiştir (Bakırcı ve ark, 2011). Yine aynı illeri kapsayan bir başka Batı Ege Bölgesi tarama çalışmasında (Bakırcı ve ark, 2012); en yoğun olarak karşılaşılan türler *H. marginatum* (% 33,5) ve *H. excavatum* (% 16,9) olmuştur. Aydın ve ilçelerindeki sığırlarda *H. marginatum* (% 47,71) yaygın olarak tespit edilmiş ve bunu *H. excavatum* (% 24,97), *H. scupense* (=detritum) (% 17,51) ve *H. anatolicum* (% 1,22) türleri izlemiştir (Bakırcı ve ark, 2012). Sezonluk dağılıma bakıldığı zaman ise; erişkin *Hyalomma* türlerinin kış aylarında daha az yoğunlukta olmakla birlikte tüm yıl boyunca görülebildiği, *Rhipicephalus* türleri ile de sonbahar harici tüm mevsimlerde karşılaşıldığı bildirilmiştir. *R. (B.) annulatus* Temmuz ve Ağustosta, *Hae. parva* sonbahar boyunca görülmüştür. *I. ricinus* ve *D. marginatus* ile ilkbahar, sonbahar ve kış aylarında karşılaşılmıştır (Bakırcı ve ark, 2012). Aynı zamanda tropikal theileriosis vektör kene türlerinin de bu bölgede varlığının belirlendiği çalışmada, Doğu bölgelerinde sığırlarda tespit edilen kene türlerine nazaran Ege Bölgesi’nde *H. marginatum* ve *H. excavatum* türlerinin daha yaygın olarak görüldüğü; *H. anatolicum*’un ise oldukça düşük oranlarda bulunduğu bildirilmiştir (Bakırcı ve ark, 2012).

Bir diğer çalışma (Aydın ve ark, 2012), Karadeniz Bölgesi’ndeki bazı illerde (Bolu, Kastamonu, Çorum, Samsun, Tokat, Giresun ve Bayburt) koyun ve keçilerde bulunan kene türleri ile bu türlerin enfestasyon oranlarının ve mevsimsel dağılımlarının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçla 2010 ve 2011 yıllarında bölgede yer alan 53 farklı yerleşim merkezinden toplam 2608 küçükbaş hayvan (2161 koyun, 447 keçi) kene enfestasyonu yönünden muayene edilmiş ve 812 tanesi (665 koyun, 147 keçi) enfeste bulunmuştur. Hayvanların tüm vücutları kene enfestasyonu yönünden muayene edilmiş, beş soya ait 12 türde toplam 2797 adet kene toplanmıştır (Aydın ve ark, 2012). Bu türler ve yüzdeleri; *R. turanicus* (% 28,63), *Hae. parva* (% 22,59), *R. bursa* (% 18,26), *D. marginatus* (% 16,55), *R. sanguineus* (% 3,32), *I. ricinus* (% 2,46), *Hae. punctata* (% 2,35), *H. marginatum* (% 2,21), *Hae. sulcata* (% 1,39), *H. excavatum* (% 1,17), *Hae. concinna* (% 0,53), *H. scupense* (=detritum) (% 0,46) şeklinde olmuştur (Aydın ve ark, 2012). Koyun ve keçilerdeki enfestasyon oranları sırasıyla % 30,77 ve % 32,88 olarak belirlenmiş ve en yaygın türlerin *R. turanicus*, *Hae. parva* ve *R. bursa* olduğu ortaya konmuştur (Aydın ve ark, 2012). Tespit edilen kenelerden *Rhipicephalus* ve *Hyalomma* türleriyle ilkbahar ve yaz aylarında; *Haemaphysalis* türleriyle kış, ilkbahar ve

sonbaharda; *Dermacentor* ve *Ixodes* türleriyle ise bütün mevsimlerde hayvanlar üzerinde karşılaşılmıştır (Aydın ve ark, 2012).

Bir başka çalışma (Arserim ve Mete, 2012) kapsamında Diyarbakır yöresinde sığır, koyun ve keçilerden toplanan keneler identifiye edilmiştir. Bu amaçla Nisan 2001 – Mart 2003 tarihleri arasında iki yıl boyunca toplam 7188 adet hayvan (koyun, keçi, sığır) muayene edilmiş, enfeste bulunan 1884 adet (% 26,21) hayvandan toplam 7853 adet kene toplanmıştır. Çalışma (Arserim ve Mete, 2012) sonucunda; *Hae. parva*, *Hae. punctata*, *Hae. sulcata*, *H. anatolicum*, *H. excavatum*, *H. marginatum*, *R. bursa*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*, olmak üzere dokuz tür tespit edilmiştir.

Aydın ilinde Şubat 2007 ile Kasım 2008 tarihleri arasında kene tutma şikâyeti ile hastanelere başvuran insanların üzerinden toplanan 3655 adet örneğin incelendiği bir çalışma (Bakırcı ve ark, 2014) yapılmıştır. Örneklerin gönderildiği kutuların bazıları boş çıkarken bazılarından ise kene haricinde başka bazı artropodlar (pire, örümcek vd.) çıkmış, bazılarınnsa vücut bütünlüğü bozulduğu için tür tayinleri yapılamamıştır. Tür tespiti yapılabilen 2664 kenenin dokuzu (% 0,3) *Argas percicus* olarak belirlenirken, diğerlerinin tamamını sert kene türleri oluşturmuştur (Bakırcı ve ark, 2014). Bu türlerin ise; % 86,97'si *Hyalomma* spp., % 8,36'sı *Rhipicephalus* spp., % 2,45'i *D. marginatus*, % 1,99'u *Ixodes* spp., % 0,23'ü *Haemaphysalis* spp. şeklinde olmuştur (Bakırcı ve ark, 2014). En yaygın tür *H. marginatum* (n=409, % 15,4) iken bunu sırayla *R. turanicus*, *H. excavatum*, *D. marginatus*, *H. aegyptium*, *I. ricinus*, *R. sanguineus*, *H. scupense*, *R. bursa*, *H. anatolicum*, *Hae. parva*, *R. annulatus* ve *H. rufipes* türleri izlemiştir (Bakırcı ve ark, 2014).

Kütahya çevresinde bulunan büyük ve küçükbaş hayvanları enfeste eden kene türlerini, bunların mevsimsel aktivitelerini ve yaygınlıklarını belirlemek amacıyla yukarıdakilere benzer bir çalışma (İça ve Özkan, 2015) yapılmıştır. Bu amaçla 2010 ve 2011yıllarının Ekim ayları arasında 10 köyde 2402 büyük ve küçükbaş hayvan ile bunların barınakları kene enfestasyonu yönünden muayene edilmiştir. Muayene edilen hayvanlarda enfestasyon oranı % 9,55 olarak saptanmış ve toplam 657 erişkin kene toplanmıştır (İça ve Özkan, 2015). Toplanan türler incelenerek; *I. ricinus*, *I. hexagonus*, *R. (B.) annulatus*, *D. marginatus*, *H. marginatum*, *Hae. parva*, *Hae. sulcata*, *Hae. punctata*, *R. bursa*, *R. sanguineus* ve *R. turanicus*'dan oluşan 11 kene türü tespit edilmiştir (İça ve Özkan, 2015). Bunlardan; *I. ricinus* ve *R. (B.) annulatus* türüne en fazla sonbahar ve kış aylarında rastlanırken. *D. marginatus* genellikle kış aylarında bulunmuş ve *H. marginatum* Nisan-Temmuz ayları arasında görülmüştür. *Hae. parva* Ekim, Kasım ve Mart aylarında bulunmuş, *Hae. sulcata* Kasım ve Mart aylarında tespit edilmiştir. *Hae. punctata* sadece Mart ve Kasım

aylarında görülürken, *Rhipicephalus* türleri ile genellikle ilkbahar sonu ve yaz aylarında karşılaşılmıştır (İça ve Özkan, 2015).

Ankara'daki benzer çalışma (Hekimoğlu ve Özer, 2015) da, Nisan 2010 ile Temmuz 2012 tarihleri arasında dokuz ilçedeki 31 yerleşim yerinde yürütülmüştür. Bu çalışmada keneler hem hayvanlar üzerinden hem de bölgedeki bitki örtüsü üzerine her beş metrede bir yerleştirilmiş olan 1 m<sup>2</sup>'lik beyaz kumaş parçaları üzerinden toplanmıştır. Toplamda 1800 adet kene toplanmış ve mikroskopik bakı ile bunların dokuz farklı türde oldukları anlaşılmıştır. Tespit edilen bu türler ve yaygınlıkları; *R. sanguineus* grubu (% 43,44), *R. bursa* (% 36,67), *H. marginatum* (% 8,83), *Hae. parva* (% 6), *H. aegyptium* (% 2,39), *H. excavatum* (% 1,33), *D. marginatus* (% 1,06), *Hae. punctata* (% 0,22) ve *H. scupense (=detritum)* (% 0,06) şeklinde olmuştur (Hekimoğlu ve Özer, 2015). Aylık dağılıma bakıldığı zaman; üç yıllık süreçte en fazla örnek Mayıs ayında (545 örnek - % 30,27) toplanırken bunu Nisan (% 26), Haziran (% 22,94) ve Temmuz (% 17,61) ayları izlemiştir (Hekimoğlu ve Özer, 2015).

Doğu Anadolu Bölge'sinde; Ağrı, Ardahan, Bingöl, Bitlis, Elazığ, Erzincan, Erzurum, Hakkâri, Iğdır, Kars, Malatya, Muş, Van ve Tunceli illerinde yürütülen çalışma (Değer ve ark, 2016) ise, bölgedeki sığırlarda kene enfestasyon oranını belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Çalışma 2008 sonbaharı ile 2009 kış ayları arasındaki bir yıllık süreçte bölgedeki 14 ile bağlı 21 yerleşim yerinde 1330 sığırın kene enfestasyonu yönünden muayenesi şeklinde yapılmış ve enfestasyon tespit edilen 494 (% 37,14) hayvanın üzerinden 1832 adet kene toplanmıştır (Değer ve ark, 2016). Mikroskopik muayene sonucu 14 farklı tür tespit edilmiştir. Bu türlerin yayılışları; *H. anatolicum* (% 22,1), *R. bursa* (% 21,01), *D. marginatus* (% 17,84), *Hae. parva* (% 13,97), *R. sanguineus* (% 8,62), *R. turanicus* (% 5,29), *H. excavatum* (% 4,31), *R. annulatus* (% 2,78), *H. marginatum* (% 1,96), *D. niveus* (% 0,65), *Hae. sulcata* (% 0,65), *H. scupense (=detritum)* (% 0,54), *H. aegyptium* (% 0,16) ve *Hae. punctata* (% 0,16) şeklinde bulunmuştur (Değer ve ark, 2016).

## 2.8. Bağışıklık

### 2.8.1. Theileriosisde Bağışıklık

Omurgalı konağın bağışıklık sistemi tarafından şekillendirilen immun yanıt, parazitin konaktaki farklı gelişim aşamalarına göre değişik şekillerde olabilmektedir. *Theileria* türleri omurgalı konakta önce vektör kene tarafından inokule edilen sporozoitlerinin mononükleer hücrelere girerek bunların içinde çok çekirdekli makroşizontları oluşturmasıyla çoğalmalarını başlatırlar. *T. annulata* sporozoitlerinin enfekte ettikleri hücre türleri de *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda değişiklik göstermektedir. Sporozoitlerin; omurgalı konakta monositlere giriş yaparken (Forsyth ve ark, 1997; 1999), *in vitro* olarak ise MHC (büyük doku uyuşum kompleksi) sınıf II pozitif hücreleri (monositler ve B hücreleri) enfekte ettikleri görülmüştür (Glass ve ark, 1989; Campbell ve ark, 1994). Bu ilk enfekte olan hücrelerde şekillenen makroşizontların gelişimini sürdürmesiyle çok sayıda merozoit oluşur ve enfekte olan hücrenin parçalanması ile de bu merozoitler serbest kalıp, kan dolaşımında eritrositleri enfekte ederler. Eritrositler içerisinde gelişimini sürdüren merozoitler de piroplazmik formlar denilen formları şekillendirerek, yaşam döngüsünü devam ettirebilmek için omurgasız konak tarafından kan emme esnasında alınmayı beklerler. Dolayısıyla parazitin omurgalı konakta geçirdiği gelişim dikkate alındığında sebep olduğu tahribat hem mononükleer hücreler hem de eritrositler üzerinde olduğu için, parazitin farklı gelişim aşamalarının sahip oldukları farklı antijenik yapılara karşı hem humoral hem de hücrel kompleks bir bağışıklık yanıtı şekillenmektedir (Karagenç ve Eren, 2007). Burada hem doğal (T hücre bağımsız) hem de kazanılmış (T hücre bağımlı) immun yanıtın söz edilebilir. Bunlarla birlikte doğal öldürücü (NK) hücreler, makrofajlar, yardımcı ve sitotoksik T hücreleri de bu immun yanıtta görev alan bağışıklık elemanları arasında sayılabilmektedir (Preston, 2001; Mehlhorn ve ark, 2008a).

Theileriosise karşı şekillendirilecek bağışıklık yanıtında enfeksiyon kaynağı olan parazitin virulensi ve parazitemisi önemlidir. Hastalığa duyarlı hayvanlar yüksek dozlarda sporozoite maruz kaldığında ölümle sonuçlanabilen akut enfeksiyonlar görülebilirken, subletal dozlarda iyileşme dönemindeki sığırlarda sporozoitler ile şekillenebilecek yeni enfeksiyonlara karşı uzun süren ve kalıcı bir bağışıklık şekillenebilmektedir (Preston ve ark, 1999).

Tropikal theileriosisde *T. annulata*'nın omurgalı konakta oldukça etkili bir bağışıklık yanıtını uyardığı anlaşılmakta, çünkü hastalığı atlatan sığırlarda etkene karşı sağlam bir

bağışıklık şekillendiği gözlenmektedir (Preston, 2001). İster vektör kenenin kan emerken sporozoitleri inokule ettiği doğal enfeksiyon olsun, isterse deneysel olarak sporozoit yada makroşizontlarla enfekte hücre kültürlerinin inokulasyonu ile oluşturulan bağışıklıklarda parazitin homolog suşları ile oluşabilecek reenfeksiyonlara veya heterolog suşların sorumlu olduğu yeni enfeksiyonlara karşı güçlü bir bağışıklık şekillenmektedir (Barnett, 1963; Hall, 1988). Tropikal theileriosisde, enfeksiyon sonrası şekillenen kazanılmış bağışıklık yaklaşık üç yıl kadar süren veya reenfeksiyonlara karşı bundan da uzun süre devam edebilen bir koruyuculuk şekillenebilmektedir (Karagenç ve Eren, 2007).

Kenenin kan emmesi sırasında veya deneysel olarak inokule edilen ve parazitin hücre dışı gelişim dönemi olan sporozoitlere karşı humoral bir bağışıklık yanıtı şekillenmektedir. Bu yanıtın çoğunlukla sporozoit aktivitesinin etkisizleştirilmesi şeklinde olduğu zannedilmektedir. Tekrarlanmış sporozoit enfeksiyonlarına maruz bırakılan sığırlarda sporozoitlerin konak hücrelerine girişlerinde önemli derecede azalmalar olduğundan bahsedilmektedir (Preston ve Brown, 1985; Williamson ve ark, 1989). Sporozoitler ile enfekte edilen sığırlardan elde edilen serumun, *invitro* ortamdaki ‘Peripheral Blood Mononuclear’ (PBM) hücrelerinin yeni sporozoitler ile enfekte olmasını engellediği, aynı zamanda *T. annulata*’nın bir stoğuna karşı elde edilen serumun heterolog sporozoit stoklarının da aktivitesini engellediği bildirilmiştir (Gray ve Brown, 1981). Bir başka çalışmada yine sporozoit enfeksiyonu ile elde edilen sığır serumunun, *in vitro* ortamda parazitin trofozoit formlarının makroşizontlara gelişimini sınırlandırdığı görülmüştür (Preston ve Brown, 1985). Sporozoitler ile şekillenen bağışıklığın, parazitin heterolog suşlarına karşı şekillenebilen reenfeksiyonlara karşı koruyuculuğunun atenüye kültürlerine göre daha yüksek düzeyde olduğundan bahsedilmektedir (Preston ve Brown, 1988). Tüm bu anlatılanlara karşın; sporozoitlerin konak hücrelerini enfekte etmelerinin kısa bir süre içerisinde gerçekleştiği, bu yüzden de koruyucu bir bağışıklığın şekillenmesi için yüksek oranlarda antikor titresi gerektiği bildirilmektedir. Doğal enfeksiyonlarda bu seviyelerdeki antikor titrelerinin şekillenebilmesi için ise tekrarlayan kene enfestasyonları ile sürekli sporozoit inokulasyonu gerekmektedir. Bu yüzden de hiperimmün sığır serumlarının *in vitro* olarak sporozoit etkinliğini sınırlandırmasından yola çıkılarak hedef antijenleri belirleyebilmek için çeşitli çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir (Williamson ve ark, 1989; Hall ve ark, 1992; Katzer ve ark, 1994; Knight ve ark, 1996; Darghouth ve ark, 2006).

Hastalığa karşı bağışıklık şekillenmiş hayvanlardan elde edilen serum örneklerine karşı; parazitin yalnızca sporozoitlerinin değil aynı zamanda trofozoitlerinin de duyarlı olduğu ve gelişimlerinin baskılandığından bahsedilmektedir (Preston ve Brown, 1985). Normal



döngüde konak hücresi içerisine giren sporozoit önce trofozoite dönüşmekte, sonra da gelişerek şizontları şekillendirmektedir. *In vitro* ortamda parazit hücre içerisine girdikten sonra, *T. annulata*'ya karşı bağışıklık şekillenmiş hayvanlardan elde edilen serum ile muamele edildiğinde trofozoitlerin şizontlara dönüşümü baskılanmış ve bu etkinliğin serumda bulunan sitokinler vasıtasıyla sağlandığı ortaya konmuştur (Preston ve ark, 1992). *T. annulata* ve *T. parva* trofozoitleri ile enfekte hücreler üzerinde yapılan bir *in vitro* çalışmada TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor), IFN- $\alpha$  (interferon), IFN- $\gamma$ , IL-1 (interleukin) ve IL-6'nın baskılayıcı etkileri görülmüştür (Preston ve ark, 1992). Ayrıca tropikal theileriosisde; doğal öldürücü (NK) hücreler tarafından üretilen nitrik oksit (NO) ve gama-interferon (IFN- $\gamma$ ) ile CD4<sup>+</sup> (cluster designation) T ve CD8<sup>+</sup> T lenfositlerin trofozoit ile enfekte hücreleri öldürdüğü, CD8<sup>+</sup> T ve doğal katil hücrelerin de ilk bağışıklık yanıtından kaçan şizont ile enfekte hücreleri erittiğinden bahsedilmektedir (Preston, 2001). Birincil enfeksiyonu atlatan hayvanlarda oluşan asıl direncin, parazite özgü CD4<sup>+</sup> bellek T hücrelerinin makrofaj aktivasyonunu arttırmasıyla, doğal bağışık yanıtın şekillenmesi şeklinde olduğu ifade edilmektedir (Preston ve Jongejan, 1999).

Theileriosisde humoral bağışıklık mekanizması hem *T. annulata* hem de *T. parva* enfeksiyonlarında önemli bir yer tutmakta ve parazitin sporozoit ve merozoit gelişim aşamalarına karşı konağın koruması için devreye girmektedir. Bunun yanında tropikal theileriosisde etkenin şizontları ile enfekte hücrelere karşı şekillenen hücresel yanıt da hastalıktan korunmada önem arz etmektedir. Makroşizont ile enfekte hücreler IFN- $\alpha$ 1 ve TNF- $\alpha$  üretirken, *in vitro* ve *ex vivo* hücre kültürlerinde mRNA düzeyinde IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL6, IL10, IL12, TNF- $\alpha$  eksprese edilmekte ve intraselluler olarak TNF- $\alpha$  üretilmektedir (Preston ve ark, 1999). Sporozoitlerle veya şizont ile enfekte makrofajlarla enfekte edilen buzağuların periferel kanından elde edilen makrofajların, şizont ile enfekte hücreler üzerinde güçlü bir sitostatik etkilerinin olduğunu ortaya koyan bazı çalışmalar bulunmaktadır (Preston ve Brown, 1988; Preston ve ark, 1993). Ayrıca makroşizont ile enfekte hücrelerden salınan TNF- $\alpha$ 'nın, enfekte olmayan makrofajlarda da TNF- $\alpha$  sentezini uyardığından bahsedilmektedir (Preston ve ark, 1993). Bunların yanı sıra makrofajlar ve lenfositlerden NO salınımı olmakta (Visser ve ark, 1995), makrofajlar tarafından gerçekleştirilen NO salınımının antijen spesifik yardımcı CD4<sup>+</sup> hücreleri tarafından üretilen IFN- $\gamma$ 'nın uyarımı ile şekillendiği bildirilmektedir (Campbell ve ark, 1997). Yapılan bir çalışmayla (Visser ve ark, 1995) nitrik oksitin; *T. annulata* sporozoitlerinin konak hücrelerine girişini ve aynı zamanda trofozoitlerin de gelişerek makroşizontlara dönüşmesini engellediği tespit edilmiştir. Ayrıca yine NO'nun; *in vitro* ortamda şizontlar ile enfekte hücrelerin çoğalmasını baskılayıp, enfekte hücreleri

öldürdüğü bildirilmiştir (Richardson ve ark, 1998). Tropikal theileriosisde gözlenen bağışıklık mekanizmasında doğal öldürücü (NK) hücrelerin de önemli görevleri bulunmaktadır. NK hücreleri, sporozoitler ile oluşturulan enfeksiyonlarda iyileşme döneminde görülmekte ve makroşizontlar ile enfekte hücreler tarafından üretilen IFN- $\gamma$ , IL-12 ve TNF- $\alpha$  sitokinleri tarafından aktive edilmektedirler. Enfeksiyon sırasında etkin hale gelen makrofaj ve NK hücrelerinden salgılanan ürünler kazanılmış T yardımcı tip 1 (Th1) yanıtın artmasına neden olabilir (Preston ve ark, 1999). Doğal öldürücü (NK) hücreler, şizont ile enfekte hücreleri eriterek, IFN- $\gamma$  salınımına sebep olurlar. Bu IFN- $\gamma$  da enfekte olmamış makrofajlardan TNF- $\alpha$  ile nitrik oksit (NO) salınımına sebep olur. Ayrıca IL12'nin üretimi Th0 hücrelerin gelişerek CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> hücrelerini şekillendirmesine de neden olmaktadır (Preston ve ark, 1983; 1999).

Makroşizont ve merozoitlerin şekillenmesinden sonraki aşama olan merozoitler de parazitin hücre dışı gelişim aşamalarındandır ve bu aşamaya karşı da humoral bağışıklık yanıtı geliştiği bilinmektedir. Ancak merozoit ve devamında piroplazmik formlara karşı gelişen bağışıklık yanıtı ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Bunun bir nedeni piroplazmlar oluşana kadar hayvanda ölüm şekillenebilmesi nedeniyle merozoit ya da piroplazmlara karşı şekillenen immun yanıtın hayvanı enfeksiyondan koruyamadığı düşüncesidir (Brown, 1990). Ayrıca parazitin bu gelişim formunun elde edilmesindeki zorluklar da bir diğer nedendir. İlerleyen yıllarda enfekte hücrelerin 41°C'de kültüre edilmesi ile merozoitlerin farklılaşarak piroplazmlara dönüşümü sağlanmış ve konuyla ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır (Glascodine ve ark, 1990). *T. annulata* merozoit yüzey proteinlerine (Tams) ait birçok allelin sekans analizi sonucunda bu bölgenin birçok polimorfik molekülü kodladığı görülmüştür. Antijenik farklılığın bu derece çeşitlilik göstermesinin, de bağışıklık sisteminden korunmada parazitin bu değişken epitoplarnı kullandığı gösterdiği belirtilmektedir (Dickson ve Shields, 1993; Shields ve ark, 1994; 1995; Boulter ve Hall, 1999). Buna karşın; NO'nun serbest merozoitlere ve eritrositler içerisindeki piroplazmik formlara etki ettiği, antikorların merozoitleri yıkılmamakla birlikte eritrositler içerisindeki piroplazmların gelişimini durdurduğu ve aktive olmuş makrofajların da enfekte eritrositleri fagosite ederek yıkımladıkları bilinmektedir (Karagenç ve Eren, 2007).

Doğu sahili hummasında konağın iyileşmesi ve yeni bir *T. parva* enfeksiyonuna karşı korunma sağlanmasında; öncelikli olarak parazite özgü CD8<sup>+</sup> T hücreleri, sınıf I MHC kompleksi ve sitotoksik T lenfositler görev almaktadırlar. Enfeksiyon sırasında gamma-delta ( $\gamma\delta$ ) T hücrelerinin yanıtı şekillenmektedir. Bu durum parazit baskılayıcı sitokinlerin üretimi ve liktik aktivitesi ile bağlantılı olarak meydana gelmektedir. Bağışık sığırlarda güçlü bir

CD4<sup>+</sup> T hücre yanıtı şekillenmekte ve sitokin üretimi ve sitolizis yoluyla direkt olarak enfeksiyon önlenmektedir. Ayrıca doğuştan gelen bağışıklık mekanizmaları da enfeksiyona karşı koruyucu rol oynayabilmektedirler (Preston, 2001).

*Theileria* türleri arasındaki çapraz bağışıklık durumuna bakılacak olursa; *T. lawrencei*'nin *T. parva* enfeksiyonlarına karşı koruma sağlayabildiği ancak bunun haricinde diğer *Theileria* türleri arasında çapraz bağışıklığın söz konusu olmadığından bahsedilmektedir (Soulsby 1982; Levine, 1985).

İyi huylu theileriosis etkenlerinden (*T. orientalis*) kaynaklanan enfeksiyonlarda çoğunlukla iyileşme ve muhtemelen ömür boyu taşıyıcılık şekillenmekte ancak beslenme ve bakım koşullarında ani değişimler, gebelik, laktasyon gibi stres faktörlerin nüklere neden olabileceği bildirilmektedir (Sugimoto ve Fujisaki, 2002).

Theileriosisden korunmada aşının da önemli bir yeri bulunmaktadır. Özellikle tropikal theileriosise karşı Türkiye de dâhil olmak üzere pek çok ülkede *T. annulata* makroşizontu ile enfekte hücre kültürü (canlı atenüye) ile aşılama uygulamaları yapılmaktadır (Karagenç ve Eren, 2007). *In vitro* olarak *T. annulata*'nın farklı suşlarının makroşizontları ile enfekte hücre kültürleri 50 ile 300 pasaj arasında (altı ay-üç yıl) atenüye olarak virülenslerini tamamen kaybetmekte ve böylece aşı olarak kullanılabilirler (Brown, 1990). Buna karşın aşının her zaman yeterli düzeyde koruyuculuk sağlayamadığı ile ilgili bilgiler de bulunmaktadır. Türkiye'de, *T. annulata*'ya karşı aşılanan hayvanlarda aşının koruyucu etkinliğinin genotipik düzeyde belirlenmesi amacıyla yürütülen bir çalışmada (Aksulu, 2015); Aydın ili Akçaova-Çine bölgesinde *T. annulata*'nın attenüye hücre kültürleri (TEYLOVAC<sup>TM</sup>, Vetal) ile yapılan aşılama parazitin heterolog suşlarına karşı tam bir koruma sağlamadığı ve aşıları hayvanlarda şiddetli theileriosis hatta ölümler görüldüğü bildirilmiştir. Bunun muhtemel nedenleriyle ilgili olarak bazı görüşler bulunmaktadır. Doğal şartlarda parazitlerde oluşan seksüel rekombinasyon popülasyonun genetik çeşitliliğinin oluşmasında önemli yer tutmakta ayrıca hastalıkta tedavi amaçlı ilaç uygulamaları ve koruyucu amaçlı aşılama parazitin *T. annulata* popülasyonları üzerine selektif etki yaparak popülasyonun yapısını değiştirmekte, bunların kenelere aktarımına ve dolayısıyla oluşacak yeni popülasyonda genetik farklılıkların oluşmasına sebep olduğundan bahsedilmektedir. Bu durumun da, gelecekte parazitin farklı popülasyonlarından kaynaklanan yeni risklerin (ilaç direnci, aşılama koruyucu etkinliğinin azalması, yüksek patojeniteye sahip dirençli suşların oluşması gibi) ortaya çıkmasına yol açacağı düşünülmektedir (Aksulu, 2015).

Atenüye canlı aşılama yanında moleküler teknolojinin yardımıyla tropikal theileriosisten korunmada moleküler aşı olarak kullanılabilir; sporozoit, makroşizont ve

piroplazm dönemlerine ait antijenlerin kullanıldığı deneysel çalışmalardan da bahsedilmektedir (Karagenç ve Eren, 2007). Bunların farklı oranlarda koruma sağladığı bildirilmiştir (Morrison ve McKeever, 2006). *T. annulata* sporozoit yüzey antijeni olan SPAG-1 ile atenüye hücre kültürünün birlikte kullanıldığında tropikal theileriosise karşı korumada iyi sonuç alındığı bildirilmiştir (Darghouth ve ark, 2006). Gelişmeye devam etmekte olan moleküler teknolojilerin yardımı ve gen dizi analizi tamamlanan *T. annulata*'nın immun mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasıyla tropikal theileriosise karşı korunmada aşı üretimi adına yeni hedeflerin ortaya konacağı düşünülmektedir (Karagenç ve Eren, 2007).

### 2.8.2. Babesiosise Bağışıklık

Babesiosise karşı oluşturulan bağışıklık *Babesia* türlerine konaklık yapan tüm memelilerde ya enfeksiyonun atlatılması ya da aşılama gibi koruyucu amaçlı uygulamaların yardımıyla şekillenmektedir. Şekillenen bağışıklık humoral ve hüresel bağışıklık elemanlarının görev aldığı doğal ve kazanılmış bağışıklık şeklinde olmaktadır (Homer ve ark, 2000). Doğuştan gelen bağışıklık mekanizması non-spesifiktir ve konak hücrelerinin (mononükleer fagosit sistem ve polimorf nükleer lökositler) yanıtı konağın yaşı, genetik faktörler, konak-parazit arasındaki özgülük gibi faktörlere bağlı olarak farklılık göstermektedir (Bock ve ark, 2008).

Parazitin omurgalı konak için efektif formları olan sporozoitler, kenenin kan emerken inokule etmesi veya yapay olarak enjekte edilmesi ile dolaşım sisteminde kısa bir süreliğine de olsa serbest dolaşırlar. Parazite karşı ilk tepki bu aşamada gelir. Bu serbest aşamada IgG (immunglobulin-G) molekülleri sporozoitlere bağlanarak onları etkisiz hale getirip hedef hücre olan eritrositler içerisine girmelerine engel olmaya çalışarak enfeksiyonu engelleyebilirler. Ancak sporozoitlerin inokulasyonundan eritrositleri enfekte etmelerine kadar geçen süre oldukça kısa olduğu için, antikorların görev aldığı humoral bağışıklık olan bu aşama *Babesia* enfeksiyonlarında sınırlıdır. Bu ilk aşamada IgG'lerden kaçarak eritrositler içerisine girmeyi başarabilen sporozoitler için ikinci aşama devreye girer (Homer ve ark, 2000). Parazit hücre membranından oluşan parazitofor vakuol ile hücreye giriş yaptığı için ilk etapta savunma sisteminden korunur. Sonrasında bu membran eriyerek parazit hücre stoplazmasında serbest kalır ve trofozoit şekline dönüşür. Oluşan trofozoit olgunlaşarak merogoni benzeri bir şekilde ikiye bölünerek çoğalır ve oluşan merozoitler de hücrenin parçalanması ile serbest kalarak diğer eritrositleri enfekte eder ve böylece parazitemi

yükselmeye başlar (Cooke ve ark, 2005; Yokoyoma ve ark, 2006). Bu parazitemi artışı özellikle de makrofaj ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin yokluğunda gerçekleşir ve bu dönemde akut babesiosis şekillenebilir. Bu hücrelerin devreye girmesiyle ise parazitemi yükselmesi yavaşlatılır. Bunda NK hücrelerinden salınan IFN- $\gamma$  ile makrofajlarca üretilen TNF- $\alpha$ , NO ve (ROs) reaktif oksijen türlerinin rolü bulunmaktadır. Parazitemideki düşüş parazitlerin tahribatı ve sonrasında dalak tarafından temizlenmesiyle gerçekleştirilir. Enfeksiyonun çözülme aşamasına girildiği bu dönemde hastalığın şiddeti azalarak sakin döneme geçilir. Bu gerileme aşamasında parazitlerin etkisiz hale getirilmesinde özellikle CD4<sup>+</sup> T lenfositler ile IFN- $\gamma$  önemli görev üstlenirler (Homer ve ark, 2000). Bunların yanı sıra eritrositler içerisine giren sporozoitlere ait antijenler antikör üretimini uyararak sıvısal bir yanıtta da sebep olurlar. Antikörler sporozoitleri fagositoza duyarlı hale getirerek (opsonizasyon) dalaktan köken alan makrofajlar tarafından fagositoz yoluyla ortadan kaldırılmalarına yardımcı olurlar (McGuire ve ark, 1979). Nitrik oksit akut babesiosis süresince makrofajlar, monositler, nötrofiller ve endotelial hücrelerde indüklenebilir nitrik oksit sentaz (INOS) tarafından üretilen reaktif nitrojen araçları (RNI)'dir. *In vitro* olarak NO'nun *B. bovis*'in varlığına negatif etki ettiği ve *B. bovis* merozoitlerinin IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  varlığında monosit/makrofajlar tarafından NO üretimini teşvik ettiğinden bahsedilmektedir (Goff ve ark, 2002).

Babesiosisde şekillenen doğal bağışıklıkta; parazitin çeşitli bileşenleri memelilerde bulunan TLR'ye (Toll-like receptors: jeton benzeri reseptörler) bağlanarak doğal immun yanıtı uyardıkları gözlenmektedir. Çeşitli lökosit alt kümelerinde bulunan TLR'lerin görevi PAMP'lere (Pathogen-associated molecular patterns: patojene ilgili moleküler motifler) bağlanmaktır. Bu sayede doğal immun yanıt uyarılır ve kazanılmış immun yanıtın başlaması için gerekli olan antijen sunan hücrelerin sitokinler ve kostimülatör molekülleri üretmesi sağlanır (Brown ve ark, 2006).

*Babesia* türlerine karşı şekillenen bağışıklıkta humoral yanıtı nazaran, hücresel yanıt daha fazla önem arz etmektedir. Bu yanıtta da dalak önemli bir retiküloendotelial sistem organı olarak karşımıza çıkmaktadır (Soulsby, 1982). Yukarıda *Babesia* türleri anlatılırken de dalağı alınmış hayvanlarda enfeksiyon şekillenebilmesinin daha olası olduğundan bahsedilmiştir. Dalak, T ve B lenfositleri ile NK hücreleri ve makrofajların yer aldığı lenfoid bir organdır. Bağışıklık şekillenmiş hayvanların dalak hücrelerinin farelere nakliyle bu hayvanların da enfeksiyona karşı korunabildiğinden bahsedilmektedir (Meeusen ve ark, 1984). T lenfositlerin öneminin anlaşıldığı bir başka çalışmada da timussuz farelerde *B. microti* enfeksiyonunda paraziteminin normal farelere göre çok yükseldiği,

normal farelerde geçici bir parazitemi olduğu görülmüştür (Clark ve Allison, 1974; Ruebush ve Hanson, 1980). Bazı çalışmalarda (Igarashi ve ark, 1999; Shimada ve ark, 1996) CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin *B. microti* enfeksiyonuna karşı şekillenen bağışıklıkta CD8<sup>+</sup> T hücrelerine göre daha etkin rol oynadığından bahsedilmektedir. Bunun yanında Amerika'da bir insandan izole edilen WA1 *Babesia* suşu (patojenite ve mortalite bakımından *B. bovis*'e iyi bir model kabul edilir) ile farelerde oluşturulan enfeksiyona karşı şekillenen bağışıklıkta ise; CD8<sup>+</sup> T hücreleri tarafından üretilen IFN- $\gamma$  ve gamma-delta ( $\gamma\delta$ ) T hücreleri tarafından üretilen TNF- $\alpha$ 'nın etkinliği gözlenmiştir (Quick ve ark, 1993; Homer ve ark, 2000). Bir başka çalışmanın sonuçlarında ise; genetiği değiştirilmiş farelerde şekillendirilen WA1 *Babesia* suşu enfeksiyonunda CD4<sup>+</sup> T veya B lenfositlerinin hastalıktan korunmaya katkısı görülmezken, IL-12, IFN- $\gamma$  ve NO'nun görev aldıkları ve NK hücreleri ile makrofajların önemli olduğu bulunmuştur (Aguilar-Delfin ve ark, 2001). Enfekte farelerde nitrik oksit parazitin gelişimini durdururken, TNF- $\alpha$  ise onları öldürmektedir (Clark, 1978; Rosenblatt-Bin ve ark, 1996).

Uzun zamandır bilindiği kadarıyla *Babesia* enfeksiyonunu atlatan sığırlarda uzun süreli ve belirgin bir bağışıklık şekillenmektedir (Mehlhorn ve ark, 2008b). Pek çok başka protozoon enfeksiyonunda da olduğu gibi, şekillenecek bağışıklıkta parazitin suşu, virulensi, konağın ırkı, yaşı, fizyolojik durumu (gebe veya laktasyonda olması vb) gibi çeşitli faktörler rol oynamaktadır. Irk direncine bakıldığında, farklı sığır ırklarının *B. bovis* ve *B. bigemina* enfeksiyonlarına karşı duyarlılık ve dirençlerinin farklılıklar gösterdiği görülmüştür. Örneğin; *Bos indicus* türü sığırlar *B. bigemina* enfeksiyonlarına karşı *Bos taurus* sığırlarına göre daha dirençli ikeni primer *B. bovis* enfeksiyonlarında *Bos taurus* sığır türlerine nazaran *Bos indicus* türü sığırlar daha hafif klinik semptomlar göstermektedir. Benzer şekilde zebu ırkı sığırların derilerinin kenelerin kan emmesine elverişsiz olması nedeniyle bu hayvanlarda babesiosis görülmemektedir (Parker ve ark, 1985; Bock ve ark, 1997; 1999; Yukarı, 2004). Yine sığırlarda *B. bovis* ve *B. bigemina* ile primer enfeksiyonlarda yaş direnci de görülebilmektedir. Genç buzağuların bu enfeksiyonlara karşı yetişkin sığırlara nazaran daha dirençli oldukları bilinmektedir (Zintl ve ark, 2005). Buzağuların yanında tayların da babesiosise karşı direnç gösterdikleri ancak kuzularda ve köpek yavrularında böyle bir yaş direncinin bulunmadığı bildirilmektedir (Yukarı, 2004). Enzootik bir bölgedeki enfekte bir ineğin buzağısı kolostrumla IgG'leri pasif olarak alır ve bu antikorlar yaklaşık altı hafta göreceli bir koruma sağlar (Dalglish, 1993). Ancak bağışık olmayan ineklerin buzağuları da *B. bovis* ve *B. bigemina* enfeksiyonlarına karşı direnç göstermektedirler. Genç buzağuların *B. bovis* ile enfeksiyonu sonucu gelişen doğal bağışıklıkta interleukin (IL)-12, interferon (IFN)- $\gamma$  ve

indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) varlığında mRNA sentezi erken dönemde uyarılmaktadır. Bunun tersine yetişkin sığırlarda IL-12, IFN- $\gamma$  ve mRNA enfeksiyon sonrası geç uyarılmakta ve iNOS uyarımı gerçekleşmemektedir (Goff ve ark, 2001). Benzer şekilde hayvanın fizyolojik durumu ve stres faktörlerinin de bağışıklığa bazı etkileri olabilmektedir. Stresin hayvanlarda bağışıklığı negatif etkilediği bilinmektedir. Doğum gibi fizyolojik veya şap hastalığı gibi patolojik stres faktörlerinin bağışıklığın kırılarak paraziteminin yükselmesine ve enfeksiyonun tekrarlamasına katkı sağladığından bahsedilmektedir (Zintl ve ark, 2003). Türler arasında çapraz bağışıklıktan söz etmek de kolay değildir. Aynı türün farklı suşları arasında karşılıklı bir bağışıklık görülebilmekte, enfeksiyon şekillense bile en azından hafif seyirli olduğundan bahsedilmektedir. Bununla birlikte sığırlarda *B. bovis* enfeksiyonunun *B. bigemina*'ya karşı koruma sağlamadığı fakat *B. bigemina*'ya karşı oluşmuş yanıtın *B. bovis*'e karşı az da olsa koruma sağladığı bildirilmiştir (Bock ve ark, 2008).

Sığırlarda da *B. bovis* ve *B. bigemina* enfeksiyonlarında kazanılmış bağışıklık sonucu şekillenen immun yanıtta CD4+ yardımcı T hücreleri önemli görevler üstlenirler. Bu yardımcı T hücreleri, fagositik hücreleri aktive eden, B hücreleri tarafından antikor üretimini artıran, oldukça büyük önemi olduğu düşünülen IFN- $\gamma$ 'nın ve sitokinlerin üretiminden sorumludurlar (Brown ve ark, 2001). Sığırların *B. bigemina* ve *B. bovis* enfeksiyonlarından iyileşmeleri sonrasında bu etkenlere karşı en az dört yıl bağışık kaldıkları düşünülmektedir. Bunun yanında serumda antikorların varlığı bağışıklığın kanıtı olmadığı gibi antikor bulunmayışı da bağışıklığın olmadığı anlamına gelmemektedir. İyileşen sığırlarda, perifer kanda görülemeyen az sayıda parazit gelişmeye devam eder. Bu nedenle bağışıklığın premünisyon şeklinde olduğu düşünülmektedir. Buna karşın *B. bigemina* enfeksiyonunda etkenler etiyolojik bir ilaç tedavisi ile yok edilse bile hayvanın en az altı ay enfeksiyona karşı korunduğu bildirilmiş ve bu durumda steril bağışıklığın olduğu da belirtilmiştir (Bock ve ark, 2008).

*B. bovis*, *B. bigemina* ve *B. equi* gibi apikompleksan kan protozoonlarının immunodominant proteinleri ile ilgili yapılan bazı çalışmalar; parazitin kanda bulunan gelişim aşamalarına karşı şekillenen antikor aracılı konak bağışıklığının, parazitin ve/veya enfekte eritrositin yüzey moleküllerini hedef aldığını göstermiştir. Bu moleküllerin de apikal organelerde bulunduğu bildirilmiştir (McElwain ve ark, 1987; Hines ve ark, 1989; Kappmeyer ve ark, 1993).

Koyunlarda atlatılan bir *Babesia* enfeksiyonu sonrasında premünisyon şekillendiği ve enfeksiyonun latent olarak dört ile 22 aylık bir süre boyunca sürdüğü saptanmıştır (Özkoç, 1979). Ancak kuzularda yaş direnci görülmemektedir (Yukarı, 2004). Üç aylıktan küçük kuzular, anneden gelen antikorların koruyuculuklarının azalmasından dolayı meraya ilk

çıktıkları andan itibaren enfeksiyona karşı duyarlıdırlar. Buna karşın bu kuzuların merada *B. ovis* taşıyan keneler ile karşılaşmaları sonrasında endemik stabilite durumu şekillenebilmekte ve bu hayvanlar akut babesiosis'e karşı dirençli olabilmektedirler (Yeruham ve ark, 1995).

Babesiosis'e karşı bağışıklık geliştirmek amacıyla bazı aşı uygulamalarından da bahsedilmektedir. Örneğin 1897'den 1960'ların ortalarına kadar, hastalığı atlatmış sığırların kanı basit kan aşısı olarak kullanılmıştır. Sonraları ise bu canlı aşı; *B. bovis*'in virulensi azaltılarak, dalağı çıkarılmış buzağılardan geçirilerek ve hücre barındırmayan plazma benzeri mediumlarla sulandırılarak daha rafine hale getirilmiştir. Bu aşı öncelikle Avustralya'da geliştirilmiş ve kullanılmışsa da şimdilerde Afrika'da hala kullanılmaktadır. Aşının kalitesinin sürüden sürüye değiştiği de söylenmektedir. İsrail'de de benzer şekilde dalağı alınmış buzağılar kullanılarak *B. bovis* ve *B. bigemina*'ya karşı geliştirilen aşılar bulunmaktadır. Bunların hücre kültürü aşılardan daha iyi olduğu ancak soğuk zincir sağlamanın zor olduğu Afrika ve Güney Amerika gibi fakir ve tropik bölgelerdeki kullanımının kolay olmadığından bahsedilmektedir. Bunlara alternatif olarak kobalt ile iradiye edilmiş parazitlerin kullanıldığı aşılarda geliştirilmesi çalışmaları da bulunmaktadır. Ayrıca gen teknolojisi yöntemleri sayesinde aşı üretiminde kullanılacak çok sayıda antijen tanımlanmış ve çoğaltılmıştır. Örneğin *B. bigemina*'ya ait 37 kDa'luk bir glikoprotein tanımlanmıştır. Ancak antijenik polimorfizm ve korunmada etkin olan immun mekanizmalar hakkındaki bilgi yetersizliğinin aşı üretimini sınırladığı söylenmektedir (Mehlhorn ve ark, 2008b). Hastalığa karşı bağışıklık şekillenmiş hayvanın kanının aşı olarak kullanılmasıyla ilgili başka bazı problemlerden de söz edilmektedir. Örneğin sığır löykoz virüsü veya *Anaplasma* türleri gibi patojenlerin de bir hayvandan diğerine aktarılabilme riskleri bulunmaktadır (Uilenberg, 2001). Tüm bu olumsuzluklara rağmen atenüye canlı babesiosis aşılarının pek çok ülkede kullanılmaya devam ettiğinden (de Waal ve Combrink, 2006) ve bu şekilde aşılardan hayvanların ömür boyu korunduğundan bahsedilmektedir (Callow ve ark, 1997; de Vos ve Bock, 2000). Türkiye'de de küçük ruminant babesiosisinden korunmada kullanılacak aşı geliştirilmesi amacıyla yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde virulent bir *B. ovis* saha suşu dalağı çıkarılmış 12 adet kuzudan geçirilerek pasajlanmış ve patojenitesini kaybederek atenüye olup olmadığı araştırılmış ancak suşun patojenitesinde değişme tespit edilememiştir. Bu amaçla ya pasaj sayısının artırılması ya da alternatif atenüasyon metodlarının geliştirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Sevinç ve ark, 2014).



## 2.9. Tanı

### 2.9.1. Theileriosisde Tanı

Theileriosis tanısı için de diğer pek çok hastalıkta olduğu gibi, iyi bir anamnez ve dikkatli bir klinik muayene yardımıyla hastalıktan şüphelenmek önem arz etmektedir. Kötü huylu theileriosis etkenlerinin sorumlu olduğu enfeksiyonlarda genellikle yüksek ateş, yüzeysel lenf yumrularında palpe edilebilecek seviyedeki büyüme, mukozalarda anemik görüntü ve sarılık başta olmak üzere, iştahsızlık, halsizlik, geviş getirmenin azalması veya durması, göz kapaklarında şişkinlik, nabız artışı, salya ve burun akıntısı gibi klinik belirtiler gözlenebilmektedir. Ayrıca hayvanın üzerinde kene görülmesi veya görüldüğünün bildirilmesi de theileriosisi akla getirebilecek bulgulardandır. (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Preston, 2001, Mehlhorn, 2008a). Bu ilk gözlemler sonrası kesin tanı koyabilmek için ise zaman ve imkanların elverdiği ölçüde uygun bir laboratuvar tanı yönteminden yararlanmak gerekmektedir. Bu amaçla en sık olarak kullanılan ve ayrıca en ucuz ve pratik yöntem mikroskopik bakı yöntemidir. Bununla birlikte son zamanlarda geliştirilen serolojik ve moleküler tanı yöntemleri theileriosis ve babesiosisin de tanısında kullanılmaya başlanmıştır. Ölü hayvanlarda uygulanacak nekropsi muayenesi ile theileriosise özgü nekropsi bulgularının görülmesi de tanıya yardımcı yöntemlerdendir. Tanı amaçlı kullanılacak bir diğer yöntem de, periferik kan mononükleer hücrelerinin (PBM) izolasyonu ile makroşizontla enfekte hücre kültürlerinin belirlenmesi amacıyla uygulanabilen hücre kültürü yöntemidir. Bu şekilde kültüre edilen hücrelerden *T. annulata* makroşizontları ile enfekte lökositlerin in vitro olarak çoğalması sağlanarak tanı konulabilmektedir (Sharma ve Brown, 1981). Ayrıca ksenodiyagnoz yöntemi de bir diğer tanı seçeneği olarak karşımıza çıkmaktadır (Preston, 2001; Mans ve ark, 2015). Bu yöntemde şüpheli hayvan üzerinde beslenen vektör kenenin gömlek değiştirme sonrası gelişim aşaması duyarlı bir hayvan üzerine bırakılarak etkenleri nakledip nakletmediğine bakılmaktadır. Ancak uzun zaman alan ve zahmetli yöntemler olmaları bu son iki yöntemin rutinde veya epidemiyolojik çalışmalarda kullanımını sınırlandırmaktadır (İlhan, 1999; Mans ve ark, 2015).

### 2.9.1.1. Theileriosisde Mikroskopik Tanı

Theileriosisde mikroskopik tanı; kan, lenf yumrularından punksiyon yolu ile alınan lenf sıvısı ya da karaciğer veya dalaktan alınan biyopsi örneği ile hazırlanan ince, sürme kan, lenf veya biyopsi frotilerinin % 5'lik Giemsa ile boyanması ile hazırlanan preparatlarda parazite ait gelişim formlarının aranması esasına dayanmaktadır (Soulsby, 1982; Preston, 2001). Bu şekilde hazırlanan perifer kan frotilerinde eritrositler içerisinde etkenin pirop plazmik formları görülebilmektedir. Türler e göre yüzdeleri farklılıklar göstermekle birlikte, *Theileria* türlerinin pirop plazmik formları giemsa ile boyalı frotilerde genellikle yuvarlak, çomak, oval, haç, anaplasmoid ve virgül şeklinde görülmektedir (Soulsby, 1982; Taylor ve ark, 2016). Sürme kan frotilerinde eritrositler içerisindeki bu pirop plazmik formların görülmeye başlanması da, şizogoni dönemi sonrası merozoitlerin eritrositleri enfekte etmeye başlamasıyla birlikte mümkün olmaktadır. Dolayısıyla kan frotilerinde eritrositler içerisinde *Theileria* pirop plazm formları ateşin yükselmeye başlamasıyla birlikte enfeksiyonun başlangıcından itibaren ortalama bir hafta ile 10 gün içinde görülebilmektedir (Mimioğlu ve ark, 1969; Pipano ve ark, 1974). Etkenlere ait bu pirop plazmik formların yüzdelerine bakarak türler arası ayırım yapabilme noktasında fikir yürütebilmek bazen mümkün olabilese de, hastalık esnasında pirop plazmik formların değişkenlik göstermesi nedeniyle bu genellikle pek sağlıklı sonuç vermemektedir (Uilenberg, 1981; Norval ve ark, 1992). Lenf punksiyon sıvısı ve karaciğer ile dalaktan alınan biyopsi örnekleri ile hazırlanan giemsa ile boyanan preparatlarda ise parazite ait şizont formlarını görmek mümkündür (Soulsby, 1982). Özellikle kenenin sporozoitleri inokule ettiği bölgeye en yakın ve palpe edilebilir derecede büyümüş olan yüzeysel lenf yumrusundan alınan lenf sıvısından hazırlanan preparatlarda şizontların görülebilmesi, enfeksiyonun başlangıcından sonraki beşinci gün itibariyle mümkün olabilmektedir (Shaw, 2003). Ayrıca kan frotilerinde de nadiren de olsa şizont ile enfekte lenfositlere rastlanabilmektedir. Mikroskopik muayene yönteminin kolay, pratik, ucuz ve fazla zaman almaması gibi avantajları bulunmaktadır. Tabii ki sağlıklı sonuç elde edebilmek için lamaların temiz, frotilerin kaliteli olması ve iyi boyanması gerekmekte ayrıca lenf preparatlarında normal azurofilik granüllerin şizontlarla karıştırılmaması gerekmektedir (Lawrence ve ark, 1994). Bu yöntemin en önemli dezavantajı ise; akut ve kronik vakalar ile taşıyıcı hayvanları ayırt edebilmenin kolay olmamasıdır. Enfeksiyonun erken dönemlerinde (şizogoni aşamasında) alınan kan ile hazırlanan frotilerde pirop plazmlara henüz rastlanmamakta veya çok nadiren karşılaşılmaktadır. Böyle durumlarda da taşıyıcı hayvan ile hasta hayvan arasındaki ayırımı yapmak zor olmaktadır. Şizogoni sonrası

merozoitlerin eritrositleri enfekte etmeye başladığı, hastalığın ilerleyen dönemlerinde piroplazmik formlarla enfekte eritrositler preparatlarda görülmeye başlanmakta ve örneğin *T. annulata*'da % 90 seviyelerine ulaşabilmektedir. Piroplazmik formlar, enfeksiyonu atlatan hayvanların kanında uzunca bir süre kalabilmelerine karşın böyle taşıyıcı hayvanların kanında düşük bir yüzdeye sahip olmaları nedeniyle enfekte eritrositler mikroskopik muayene ile çoğu zaman tespit edilememektedirler (Pipano ve ark, 1974; Brown, 1990). Bu sebeplerden ötürü kesin tanı koyabilmek amacıyla farklı teşhis yöntemlerine ihtiyaç duyulabilmektedir. Bu amaçla serolojik ve moleküler tanı yöntemleri geliştirilmiş ve geliştirilmeye de devam etmektedir.

### **2.9.1.2. Theileriosisde Serolojik Tanı**

Theileriosisten sorumlu etkenlerin omurgalı konaktaki gelişim aşamalarına ait antijenler veya bu antijenlere karşı organizmanın savunma amacıyla şekillendirdiği antikorların varlığını ve titresini saptamaya yönelik yöntemler de tanı amaçlı olarak kullanılmaktadır. Bunlar içerisinde; İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT), Komplement Fiksasyon Testi (CFT), Enzim Bağımlı İmmunosorbent Testi (ELISA), Hemaglutinasyon İnhibisyon (HI), İndirekt Hemaglutinasyon (IHA), İmmunokromatografik Strip (ICS) gibi yöntemler sayılabilmektedir (İlhan, 1999; Bilgiç, 2010; Rajendran ve Ray, 2014; Lu ve ark, 2015; Mans ve ark, 2015).

Komplement Fiksasyon ve Hemaglutinasyon İnhibisyon testleri anti-*Theileria* antikorlarının tespitinde kullanılmakta olsalar da bu yöntemlerde tür özgüllüğü bulunmayışından dolayı önemleri ve kullanımları, özellikle de yeni yöntemlerin geliştirilmesiyle sınırlı kalmıştır (Norval ve ark, 1992). Ayrıca komplement fiksasyon testinin theileriosisin akut dönemlerinde antikorlar tespitinde işe yaradığı ancak hastalığın başlangıç dönemlerinde ve kronik evrelerinde duyarlılığının yetersiz olduğu bildirilmiştir (Kuttler ve ark, 1967).

İndirekt floresan antikor testi (IFAT), *Theileria* antikorlarının saptanmasına yönelik en yaygın olarak kullanılan serolojik yöntemlerden biridir (Pipano ve ark, 1974). Bu yöntemin etkenlerin tespitinde mikroskopik muayeneye göre daha güvenilir olduğunu ortaya koyan araştırmalar bulunmaktadır (Dhar ve Guatam, 1977; Darghouth ve ark, 1996). Bu amaçla kullanılan antijenler enfekte hayvan veya hücre kültürlerinden elde edilen şizont ve piroplazm formlarına ait antijenlerdir (Mans ve ark, 2015). Taşıyıcı konumdaki hayvanların tespiti,

türlerin tanımlanarak ayırt edilebilmesi, monoklonal antikörlerin kullanılarak farklı parazit popülasyonlarının araştırılması amacıyla kullanılan antijenlerin elde edilmesi için hücre kültürlerinden yararlanılmaktadır (Burrige ve Kimber, 1972; Zwegarth, 1997; 2009ab; Alhassan ve ark, 2007ab). IFAT, ekonomik öneme sahip paraziter hastalıkların tanısında altın standart yöntem olmasına karşın bazı ciddi dezavantajlara da sahiptir. Bunlardan bazıları; sonuçların yorumlanmasının subjektif olması, belirli bir sürede incelenebilecek örnek sayısının kısıtlı olması ve standardizasyon zorluklarıdır (Katende ve ark, 1998). Ayrıca bazı türler arasında çapraz reaksiyonların görülmesi de bu yöntemin en önemli problemlerindedir. Örneğin *T. parva* ile *T. taurotrogi* ve *T. sp.* (buffalo) arasında, yine *T. lestoquardi* ile *T. annulata* ve *T. parva* arasında çapraz reaksiyonlar nedeniyle yanlış sonuçlar alınabildiği bildirilmiştir (de Vos ve Roos, 1981b; Jongejan ve ark, 1986; Leemans ve ark, 1997; Pienaar ve ark, 2014). Buna rağmen epidemiyolojik çalışmalarda hala kullanılmaya devam edilmektedir (Mans ve ark, 2015).

Diğer bir serolojik tanı yöntemi olan Enzim bağımlı immunosorbent testi IFAT'a nazaran çeşitli avantajlara sahip olmasıyla dikkat çekmektedir. Ucuz ve kolay uygulanabilir olması, standardizasyonunun rahat yapılabilmesi, duyarlı ve özgül oluşu, sonuçların kişiden kişiye değişmeyip objektif olması, aynı anda çok sayıda örneğin incelenebilmesi gibi avantajları bulunan ELISA'dan hayvan hastalıklarının tanısında ve epidemiyoloji çalışmalarda sıklıkla yararlanılmaktadır (Mans ve ark, 2015). ELISA testinde kullanılmak üzere farklı *Theileria* türlerinin gelişim aşamalarına ait bazı antijenlerin tespitine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Örneğin *T. parva*'ya ait polimorfik immunodominant molekülü ve *T. mutans*'ın p32 antijeni ELISA'nın geliştirilmesinde kullanılmıştır (Katende ve ark, 1990; 1998; Morzaria ve ark, 1999). Her ikisinin de IFAT'a göre daha hassas olduğu ortaya konmuş ve ticari sunumları yapılmış ancak özgüllük sorunları henüz çözülememiş olsa da kullanımları devam etmektedir (Kiara ve ark, 2014). Benzer şekilde *T. equi*'nin EMA-1 antijeni ve buna karşı monoklonal bir antikör ELISA'nın bir çeşidi olan competitive inhibition ELISA'nın geliştirilmesi için kullanılmaya başlanmıştır (Knowles ve ark, 1992). Yine *T. equi*'nin EMA-2 antijeni indirekt ELISA ve hızlı immunkromatografi testinde kullanılmak için araştırılmıştır (Huang ve ark, 2003; 2004). Ayrıca *T. sp.* China'nın (heat-shock 70 antijeni) ve *T. uilenbergi*'nin (TuIP-immunodominant protein) de antijenlerinin tespit edilerek ELISA'da kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır (Miranda ve ark, 2006; Liu ve ark, 2010). Yine bunlara benzer şekilde *T. annulata*'nın çeşitli antijenlerinin tespitine yönelik bazı çalışmalar bulunmaktadır. Bunlardan antijenlerden bazıları; sporozoit yüzey antijeni (SPAG-1), merozoit rhoptri antijeni (Tamr-1), merozoit ve

piroplasm yüzey antijeni (Tams-1, TamtHSP70), yüzey antijeni (TaSP), şizont yüzey antijeni (TaD), şizont proteini (TaSE), mitokondriyal HSP70 ve TamtHSP70'dir (Williamson ve ark, 1989; Hall ve ark, 1992; Shiels ve ark, 1994; 1995; Schnittger ve ark, 2000b; 2002; Schneider ve ark, 2004; 2007).

Bir diğer güncel çalışmada yine *T. annulata* genomundaki tahmini antijenlerin kodlandığı gen bölgeleri tanımlanmıştır. Bu çalışmada tanımlanan proteinler, daha önceden bildirilmiş antijenlerle birlikte bağışıklık aktiviteleri (immunoreactivity) bakımından western blot analizi ile değerlendirilmiştir. Bu analiz sonucunda dört adet yeni ve beş adet de eski antijen tanımlanmıştır. Ancak allel polimorfizmi veya bireysel immun yanıt farklılıkları nedeniyle yeni tanımlanan antijenlerin hiç birinin *T. annulata* ile enfekte veya taşıyıcı hayvanlarda rutin tanı amaçlı kullanılamayacağı ELISA ile kanıtlanmıştır (Bilgiç ve ark, 2016).

Bunların yanı sıra; *Theileria* enfeksiyonları için kullanılan serolojik testler içerisinde; *T. sergenti* enfeksiyonunun tanısında kullanılmış ve epidemiyolojik olarak da kullanılabileceği bildirilmiş olan lateks aglutinasyon testi bulunmaktadır (Jeong ve ark, 2005). Tanı amaçlı kullanılabilen bir diğer test de Lateral Flow Immunochromatographic Strip testidir. Diğer bazı apikompleksan parazitlerin tanısında kullanılan immunokromatografik strip testi (Huang ve ark, 2004ab; Kim ve ark, 2007a) *T. annulata* enfeksiyonlarının tanısı için de geliştirilmiştir. İmmunodominant antijen olarak geçerliliği kabul edilen TaSP proteinin kullanıldığı, *T. annulata*- Lateral Flow Device (Ta-LFD) oldukça basit ve kullanışlı bir test olduğundan bahsedilmektedir (Renneker ve ark, 2008; 2009; Abdo ve ark, 2010). Ayrıca küçük ruminantların patojen *Theileria* türlerinden olan *T. uilenbergi* ile *T. luwenshuni* enfeksiyonlarının tanısı için immunokromatografik strip (ICS) testinin geliştirildiği bir çalışma da bulunmaktadır. Serumda antikorların tespitine yönelik olan bu testte rekombinant *T. uilenbergi* immunodominant proteini (rTuIP) kullanılmış, bu testin duyarlılık ve özgüllüğünün iyi olduğu, küçük ruminant theileriosisinin tanısında kullanılabileceği ancak *T. uilenbergi* ve *T. luwenshuni*'nin ayrımının yapılamadığı bildirilmiştir (Lu ve ark, 2015).

### **2.9.1.3. Theileriosisde Moleküler Tanı**

Nükleik asit tabanlı metodların geliştirilmesi, parazitlerin tespiti için kullanılabilecek çeşitli yeni tanı imkânları sunmaktadır. Bu alanlardaki teknolojik gelişmelerin hızlı evrimi, hastalıkların tanısında duyarlılık ve özgüllük konularında da daha sağlıklı sonuçlar alınmasını

sağlamaktadır. Kene kaynaklı kan parazitlerinin tanısında en yaygın olarak kullanılan moleküler yöntemler arasında; Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), PCR- Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Reverse Line Blotting (RLB), Gerçek Zamanlı (real-time) PCR ve Loop Mediated Amplification (LAMP), Self Sustaining Sequence Replication (3SR-diğer isimleri; Nucleic Acid Sequence Based Amplification-NASBA ve Transcription Mediated Amplification-TMA), pan-FRET ve high resolution melt analysis gibi metotlar sayılabilmektedir (Criado-Fornelio, 2007; Mans ve ark, 2015). Pek çok moleküler yöntem, bir tür veya cins içerisindeki tüm bireylerde ortak olduğu düşünölen küçük bir gen bölgesini hedefleyen primer ve/veya problemlerin kullanımı temeline dayanmaktadır. Dolayısıyla genomlar içerisindeki tür veya cinslere özgü gen bölgelerinin tanımlanmasına yönelik çalışmalar önem arz etmektedir (Mans ve ark, 2015).

PCR, *Theileria* türlerinin hassas ve özgül biçimde tanısı için sıkça kullanılmakta olan yöntemlerden biridir. Bu amaçla PCR'in etkinliğinin artırılması açısından, seçilen genomik hedef ve primerlerin değışkenlik gösterdiği çeşitli PCR yöntemleri de geliştirilmiştir. Parazit DNA'sını hedefleyen bu çalışmalar parazitin hem ara konak, hem de son konaktaki varlığını ortaya koyma imkânı sağlamaktadırlar (de Kok ve ark, 1993; d'Oliveira ve ark, 1995; İlhan ve ark, 1998; Gubbels ve ark, 1999; Martin-Sanchez ve ark, 1999; Sparagano ve ark, 2002). Vektör kene *R. appendiculatus*'un tükürük bezindeki *T. parva* DNA'sının saptanmasına yönelik olarak geliştirilen primerlerin kullanıldığı PCR çalışması bunlardan biridir (Chen ve ark, 1991). Yine benzer şekilde, sığırlarda parazitlenen *T. sergenti*'nin 32, 33 ve 34 kDA major piroplazm antijenlerini kodlayan gen bölgelerini çoğaltmayı hedefleyen primerlerin tasarlanarak kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır (Kawazu ve ark, 1992; 1995; Tanaka ve ark, 1993). *T. annulata*'nın merozoit yüzey proteinini kodlayan gen bölgesini (Tams-1) çoğaltmayı hedefleyen primerlerin tasarlanarak bu parazitin tanısına yönelik çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır (d'Oliviera ve ark, 1995; Leemans ve ark, 1999; Martin-Sanchez ve ark, 1999; Dumanlı ve ark, 2005; Aktaş ve ark, 2006; Altay ve ark 2008b; Bilgiç, 2010). Parazit varlığının ortaya konmasının yanında bu yöntemlerin duyarlılıkları da önemli avantajlarındandır. Örneğin, N516/N517 primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltılan Tams-1 geninin duyarlılığının 2-3 parazit/1µl kan olduğu görölmüştür (d'Oliveira ve ark, 1995). Benzer şekilde Tams1-T3/Tams1-T5 ve Tams1F/Tspms1R primerleri kullanılarak nested PCR ile çoğaltılan Tams-1 geninin duyarlılığının 1 parazit/1µl kan olduğu saptanmıştır (Kirvar ve ark, 2000). Bir diğer çalışmada ise; 989-1347 primerler çiftleri kullanılarak PCR ile çoğaltılan ssu rRNA geninin duyarlılığının 1 parazit/4 µl kan olduğu tespit edilmiştir (İlhan ve ark, 1998). Yine

*T. annulata*'nın moleküler tespitine yönelik bir çalışmada *T. annulata*'nın sitokrom-b geninin 312 baz çiftlik bir bölgesi (cyto b1) belirlenmiş ve PCR ile çoğaltılmıştır. Duyarlılık ve özgüllüğü de test edilen bu bölgenin taşıyıcı hayvanlarda *T. annulata*'nın tespiti amacıyla PCR amplifikasyonu ve onunla birlikte kullanılabilen olan RLB yöntemi için optimal gen bölgesi olduğu kanısına varılmıştır (Bilgiç ve ark, 2010).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile çoğaltılan bölgelerin çeşitli kesim enzimleri kullanılarak kesildiği ve boy farklılıklarına göre ayrımların yapıldığı PCR-RFLP yönteminin kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin; *T. annulata* Tunus izolatları arasındaki polimorfizmin incelendiği çalışmada DNA problemleri kullanılarak RFLP yöntemi ile kesilen gen bölgelerinin boy farklılıkları saptanmıştır (Ben Miled ve ark, 1994). Bir başka çalışmada Afrika'da restriksiyon enzimleri ile kesilen *T. parva* şizontları ile enfekte lenfosit hücre kültürleri ve farklı bölgelerden alınan izolatları DNA problemleri aracılığıyla incelenmiş ve *T. parva*'nın farklı alt hücre klonları ve farklı bölgelerden elde edilen suşları arasında antijenik olarak belirgin farklılıklar tespit edilmiştir (Bishop ve ark, 1994). Bunlara benzer şekilde Çin'de yürütülen bir diğer araştırmada ise; *T. annulata*, *T. sinensis*, *T. sergenti* ve bazı *Babesia* türlerinin ribozomal protein S8 (RPS8) geninin DNA sekansları kullanılarak tür spesifik PCR-RFLP tanı yöntemi geliştirilmiştir (Tian ve ark, 2015). Bunların yanı sıra nispeten yeni geliştirilmiş bir metod olan 'DNA microarray' yöntemi de veteriner hekimlikte ve *Theileria* ve *Babesia* türleri de dâhil olmak üzere kan protozoonlarının tanısında kullanım alanı bulmaya başlamıştır (El-Ashker ve ark, 2015; Salih ve ark, 2015).

Klasik PCR yöntemlerinin yanı sıra birden fazla türün eş zamanlı tespitine yönelik olarak geliştirilmiş olan multipleks PCR (mPCR) yöntemi de tanı amaçlı kullanılan moleküler tekniklerdendir (Henegariu ve ark, 1997). Bu yöntem Türkiye'de de *Theileria* ve *Babesia* türlerinin tanısında kullanım alanı bulmuştur. Kırşehir yöresinde yürütülen bir çalışmada mPCR tekniği kullanılarak eş zamanlı olarak *T. annulata* ve *T. buffeli/orientalis* türlerinin tespiti yapılmıştır (Orkun ve ark, 2012). Bir diğer araştırmada sığırlarda *T. annulata*, *B. bovis* ve *A. marginale* türlerinin eşzamanlı olarak tespitine yönelik mPCR yöntemi kullanılmış ve bu türler başarılı bir şekilde eş zamanlı olarak ve eşit duyarlılıkta çoğaltılmıştır (Bilgiç ve ark, 2013).

Çoğaltılan DNA'nın gerçek zamanlı olarak görüntülenebildiği ve böylece miktarının da saptanabildiği bir PCR çeşidi olarak real-time PCR, son yıllarda tanı amaçlı kullanılan en ileri teknolojik yöntemlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Geliştirilen floresan problemlerin kullanıldığı bu yöntemde her amplifikasyon döngüsünde floresan ışık açığa çıkmakta ve gerçek zamanlı tespit bu sayede yapılabilmektedir. Bu yöntemde reaksiyon

sonrasında çoğaltılan DNA'nın görüntülenmesi için jel elektroforez aşamasına gerek olmadığı için konvansiyonel PCR'a göre daha hızlı sonuç alınabilmektedir (Salih ve ark, 2015). Jeong ve ark (2003), real-time PCR yöntemini tanı ve miktar tespiti amacıyla *T. sergenti*'nin 33 kDa'luk genine özgü olarak tasarladıkları primerler ile kullanmışlardır. Konuyla ilgili bir diğer güncel çalışma ise Çin'de yürütülmüş ve geviş getiren hayvanlarda parazitlendiği bilinen tüm *Theileria* türlerinin tek bir reaksiyonla tespit edilebildiği bir pan-*Theileria* FRET-qPCR tekniği geliştirilmiştir (Yang ve ark, 2014).

Son yıllarda PCR'ın özgüllüğü ile ELISA'nın duyarlılığından aynı anda yararlanmayı ve parazite ait genomun tespitini amaçlayan PCR-ELISA isimli yeni bir tanı metodu geliştirilmiştir. Bu yöntemde PCR ürünleri sabit bir tespit probuna hibridize edilmektedirler. Birden fazla hedefin tespit ve ayırt edilebilmesini sağlayan, ayrıca PCR ürünü içerisindeki materyalin sekans ölçümlerinin yapılabilmesine olanak sağlayan bu yöntemin maliyet yönünden uygun olduğundan ve real-time PCR'a alternatif olabileceğinden bahsedilmektedir (Salih ve ark, 2015). PCR-ELISA yöntemi *Trypanosoma evansi*'nin son konak ve vektörlerdeki tanısı için de kullanılmıştır. Bu yöntemin duyarlılığı 0,01 pg DNA (bir ml kandaki bir adet parazit) olarak saptanmış ve *B. bovis*, *B. bigemina*, *A. marginale* ve *Theileria* türlerinin kendi aralarında ve konak DNA'sı arasında herhangi bir çapraz reaksiyon şekillenmediği bildirilmiştir (Chansiri ve ark, 2002).

Bir diğer moleküler yöntem olan RLB metodu da geliştirilerek, *Theileria* ve *Babesia* türlerinin varlığını saptamaya yönelik olarak kullanıma girmiştir. Bu parazitlerin tespitine yönelik RLB için kullanılan primerler *Theileria* ve *Babesia* cinslerindeki türlerde ortak olarak bulunan ve değişken V4 bölgesini içeren 18S rRNA gen bölgesini hedef almaktadır. Bu yöntemde kullanılan problemler ise bu genuslar içerisinde yer alan tüm türlerde ortak bulunan 18 değişken bölgesi içerisinde türlere özgü olarak tasarlanmış problemlerdir. Bu sayede eşzamanlı olarak çok sayıda farklı türün tespiti yapılabilmektedir. RLB yönteminde öncelikle *Theileria* ve *Babesia* cinsinde yer alan türlerin 18S SSU rRNA geninin V4 değişken bölgesi içinde 460-540 bp'lık parçayı amplifiye eden genel primerleri RLB-F/RLB-R kullanılarak bu bölge çoğaltılmaktadır. Daha sonra bu bölgenin çoğaltıldığı PCR ürünleri, türlere özgü problemlerin önceden hibridize edildiği biodin-c membrana miniblotter yardımıyla yüklenerek, türlerin kendilerine özgü problemlere bağlanmaları sağlanmakta ve daha sonra da bu bağlanma dolayısıyla elde edilen sinyaller görüntülenmektedir (Gubbels ve ark, 1999; Schnittger ve ark, 2004). Türkiye'de de RLB yöntemi kullanılarak sığır, koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin tespitine ve yaygınlıklarının ortaya konmasına yönelik pek çok araştırma yer almaktadır (Vatansever ve ark, 2002; Karagaç ve ark, 2005b;



İça ve ark, 2005; 2007a; Altay ve ark, 2007c; Peker, 2014; Bilgiç ve ark, 2017a). Koyunlarda parazitlenen *Theileria* türlerinin araştırıldığı bir çalışmada,  $10^7$  adet eritrosit içerisindeki tek bir enfekte eritrositin RLB yöntemi ile saptanabildiği bildirilmiştir (Altay ve ark, 2008a).

## 2.9.2. Babesiosisde Tanı

Babesiosis tanısı için de theileriosis için bahsedilen prensiplerin genel anlamda geçerli olduğu söylenebilmektedir. Öncelikle anamnez ve klinik muayene ile hastalığa ilişkin belirtiler izlenerek babesiosisten şüphelenmek önemlidir. Özellikle yüksek ateş, hemoglobinuri, mukozalarda anemi ve sarılık başta olmak üzere halsizlik, çevreye karşı ilgisizlik, iştahsızlık, geviş getirmenin durması, belki ishal veya kabızlık, enfeksiyonun çok erken aşamaları veya perakut vakalar haricinde sarı renkli dışkı, bazen dışkıda kan izleri, verim düşüklüğü, zayıflık, abort gibi çeşitli klinik belirtiler babesiosisten şüphelenmeyi gerektirir. Ayrıca yine hayvanın üzerinde kene görülmesi veya görüldüğünün bildirilmesi de önemli bir bulgudur (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Uilenberg, 2001). Bu bulgular sonrası kesin tanı ise çoğunlukla kandan hazırlanan ince sürme veya kalın damla ya da bazı organlardan hazırlanan sürme frotilerde mikroskopik bakı ile etkenlerin görülmesi esasına dayanmaktadır (Callow ve ark, 1993; Böse ve ark, 1995). Bunun yanında etkene ait antijen veya konak tarafından bu antijenlere karşı şekillendirilmiş antikorların tespitine yönelik serolojik muayene yöntemleri ve parazitin genetik materyalinin saptanmasına yönelik moleküler biyolojik yöntemler de son yıllarda tanı ve epidemiyolojik çalışmalar için kullanılmaktadır (Morzaria ve ark, 1992; Bock ve ark, 2004). *In vitro* kültürasyon ve şüpheli hayvandan alınan kanın duyarlı bir hayvana (örneğin dalağı alınmış buzağı) inokulasyonu gibi yöntemler de tanı amaçlı kullanılabilir (Bock ve ark, 2004). Ayrıca nekropside babesiosise ilişkin bulguların görülmesi de tanıya yardımcı unsurlardandır. Yeni ölmüş hayvanın böbrek, beyin, kalp kası, dalak ve karaciğer gibi organlarından hazırlanacak sürme frotilerin de tanı amaçlı kullanılabileceği bildirilmektedir (Böse ve ark, 1995).

### 2.9.2.1. Babesiosisde Mikroskopik Tanı

Babesiosis tanısına yönelik olarak günümüzde de hala kullanımdaki ve belki de en pratik yöntemlerden olan mikroskopik muayene, hastalığın akut formunda enfekte eritrosit

sayısındaki hızlı artış nedeniyle parazitin piroplazmik formlarının tespiti için oldukça faydalı olmasına karşın, kronik ya da subklinik enfeksiyonlarda aynı etkinliğe sahip olamamakta ve diğer yöntemlerle tanının güçlendirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Mosqueda ve ark, 2012). Hastalığın çok erken aşamalarında veya taşıyıcı hayvanlar için de aynı durum geçerli olabilmektedir (Wagner ve ark, 1992). Kandan hazırlanacak ince yayma veya kalın damla preparatlardan en sağlıklı sonucun alınması için kapillar kan kullanılması, bunun için de kulak veya kuyruk ucunun delinmesi sonucu çıkan ilk damla kanın kullanılması özellikle önem taşımaktadır (Bock ve ark, 2004; Mosqueda ve ark, 2012). Örneğin *B. bovis* için, genel dolaşım kanından alınan örnekte, kapillar kana oranla 20 kat daha az etken bulunabildiği bildirilmektedir (Callow ve ark, 1993). Bununla birlikte *B. bigemina*'da enfekte eritrositlerin kan dolaşımına eşit dağılmış olduğu da belirtilmektedir (Bock ve ark, 2004). Dolayısıyla enfeksiyondan sorumlu tür veya türler muayene öncesi bilinemediğinden froti hazırlamak için her zaman için mümkünse perifer kan tercih edilmelidir. İnce yayma kan frotileri metanol içerisinde fikse edilerek (sabitlenerek, tespit edilerek) çoğunlukla Giemsa boyası ile boyanmaktadır. Enfekte eritrositler içerisinde etkenin özellikle çift armut formlarının görülmesi tanı için belirleyici olmakla beraber, türe bağlı olarak diğer form (tek armut, yüzük, halka) ve çeşitli boyutlarda trofozoitlerle de karşılaşılabilen ve bu formlar tanıyı güçleştirdiği gibi zaman kaybına da yol açabilmektedirler (Mosqueda ve ark, 2012).

Kandan hazırlanan kalın damla preparatlar ise çoğunlukla düşük parazitemili durumlarda, özellikle de *B. bovis* enfeksiyonlarının veya subklinik enfeksiyonların tanısı için tavsiye edilmektedir. Bu yöntemin 10 kat daha hassas olduğundan bahsedilmektedir (Böse ve ark, 1995). Burada bir damla kan lam üzerine damlatılarak sürme yapmadan, olduğu gibi kuruması sağlanıp, fikse edilmeden direkt olarak Giemsa ile boyanmaktadır. Bu yöntemin avantajı; kullanılan kan hacmi, dolayısıyla taranan eritrosit miktarı fazla olmakta ve bu sebeple de enfekte eritrositle karşılaşma ihtimali artmaktadır. Tabi bu yöntemde, ince yayma frotilere oranla çok daha fazla kümelenmiş, adeta yığın halindeki eritrositler içerisinde enfekte olanları saptayabilmek için tecrübeli bir mikroskop kullanıcısı daha sağlıklı tanı için önem arz etmektedir (Mosqueda ve ark, 2012).

Ölü hayvanlarda çeşitli organlardan ve *B. bovis* şüpheli vakalarda (örneğin sinirsel belirtiler gözlenmiş) beyin gri maddesinden hazırlanan sürme preparatlar da ince kan yaymalarında olduğu gibi metanol ile fikse edilerek giemsa ile boyanmakta ve mikroskopik olarak enfekte eritrositler aranarak tanı konmaya çalışılmaktadır (Ristic, 1981). Uilenberg (1972), *B. bovis*'in sinirsel formundan bu şekilde hazırlanmış beyin preparatlarının

incelemesinde beyin kapillarlarında karşılaşılan eritrositlerin neredeyse % 100 oranında enfekte olduğundan bahsetmektedir.

Bunlara ilaveten vektör kenenin de *Babesia* ile enfekte olup olmadığı mikroskopik olarak araştırılabilmektedir. Şüpheli kenenin bir bacağı koparılarak sıızan az miktardaki hemolenf lam üzerine damlatılarak, kurutulup (miktar çok az olduğu için sürme preparat hazırlamak çoğu zaman mümkün olmamaktadır) fikze edilir ve aynı şekilde Giemsa ile boyanır. Burada ise parazitin vermiküler şeklindeki (solucanımsı) kinet formları görülmeye çalışılır (Friedhoff ve Scholtyseck, 1968; 1969). Hemolenfte kinet yoğunluğunun en fazla olduğu dönemin kene doyduktan 5-6 gün sonrası olduğu görülmüştür (Riek, 1964). Burada da sağlıklı bir tanı için tecrübeli bir göze olan ihtiyaçtan bahsedilmektedir (Mosqueda ve ark, 2012).

### 2.9.2.2. Babesiosisde Serolojik Tanı

Kandaki *Babesia* miktarının mikroskopik tespit için çok düşük seviyelerde olduğu durumlarda, parazitin proteinlerine karşı şekillenmiş antikorların aranmasına dayanan yöntemlerin, enfekte taşıyıcı veya daha önceden parazite maruz kalmış hayvanların tespitinde güvenilir metodlar olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu amaçla en sık kullanılan serolojik yöntemler olarak; indirekt floresan antikor testi (IFAT), enzim bağımlı immunosorbent testi (ELISA), slide enzim bağımlı immunosorbent testi (SELISA), komplement fiksasyon testi (CFT), indirekt hemaglunitasyon testi (IHAT), lateks aglutinasyon testi (LAT), card aglutinasyon testi (CAT), radyo immunoassay (RIA) ve immuno kromatografi testi (ICT) sayılabilmektedir (Böse ve ark, 1995; Bock ve ark, 2004; Kim ve ark, 2008; Mosqueda ve ark, 2012; Eshetu, 2015).

Omurgalı konak bağışıklık sistemi tarafından *Babesia* türlerine karşı şekillenmiş antikorların tespitine yönelik olarak ilk geliştirilen serolojik yöntem olan komplement fiksasyon (CF) testi, *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. caballi*, *B. equi* gibi çeşitli *Babesia* türlerinin tanısı için kullanılmıştır. Özellikle sığırlarda parazitlenen *Babesia* türleri arası ayırım için yüksek özgüllüğe sahip olan bu testin duyarlılığı için ise aynı şeyi söylemek zordur. Özgüllük konusunda % 98-99'luk bir performans gösterirken, antikorları tespit gücü olan duyarlılığı, enfeksiyon sonrasındaki birkaç aylık zaman dilimiyle sınırlı kalmaktadır (Mahoney, 1977; Todorovic ve Carson, 1981; Nierlich, 1990). Bu test ile primer babesiosis vakalarının erken dönemlerinde şekillenen IgM tespitinde IgG'ye oranla daha hassas sonuç

alındığı, ayrıca akut durumlarda % 94-100 arası pozitiflik oranı saptanırken, enfeksiyon sonrasındaki dört-beş aylık dönemde bu oranın % 50'lere düştüğü bildirilmiştir (Todorovic ve Carson, 1981).

Bir diğer serolojik tanı yöntemi olan hemaglutinasyon testi, doğal *Babesia* enfeksiyonlarında % 99,3, deneysel enfeksiyonlarda ise % 100 oranında duyarlılığa sahip olmasına karşın, tür özgüllüğünün zayıf olması sebebiyle çok tercih edilmemiştir (Goodger ve Mahoney, 1974). Bununla birlikte uzun süreli latent enfeksiyonların tanısında indirekt hemaglutinasyon ve kapillar aglutinasyon testlerinin kullanılabilirdiğinden bahsedilmektedir (Ristic, 1984).

Parazite ait antijenlerin, kandaki serum antikorları yardımıyla tanınması prensibine dayanan IFAT, babesiosisin tanısı için ilk defa Ristic ve Sibinovic (1964) tarafından kronik enfekte atlarda *B. caballi*'nin tespitinde kullanılmıştır. Takip eden yıllarda ise çeşitli çalışmalar ile diğer pek çok *Babesia* türüne adapte edilerek duyarlılık ve özgüllüğü geliştirilmiştir (Burrige ve ark, 1973; Johnston ve ark, 1973; Morzaria ve ark, 1977; Krause ve ark, 1994; Vercammen ve ark; 1995; Duh ve ark, 2007). IFAT'da antijen ile bağlanan antikorlar florokrom ile işaretli sekonder antikorlar (anti Ig) ile saptanmaktadır. IFAT uygulaması çok zor olmayan ancak sağlıklı sonuç alabilmek için iyi kalitede antijen gerektiren bir testtir ve kaliteli antijen temini zor olabilmektedir. Ayrıca floresan mikroskop ve tecrübeli bir göze olan ihtiyaç yanında her örneğin muayenesi için tek tek zaman ayırmak gerekmektedir. IFAT oldukça duyarlı bir test olmasına rağmen subjektif değerlendirilmesi dezavantajlarından biridir (Böse ve ark, 1995). Farklı *Babesia* türleri arasındaki ayrımlar için kullanılabilen ise de türler arasında çapraz reaksiyonlar nedeniyle yanlış sonuçlar da ortaya çıkabilmektedir (Mosqueda ve ark, 2012). Bununla birlikte duyarlılığı CF testine oranla oldukça yüksek sayılabilmektedir. Örneğin *B. bigemina* enfeksiyonunda iki yıl kadar sonrası bile serumda antikor tespit edilebildiği bildirilmiştir (Todorovic ve Carson, 1981). Dolayısıyla hastalığın her döneminde kullanılabilirdiği için en çok tercih edilen testlerdendir (Todorovic, 1975; Bidwell ve ark, 1978).

Özellikle örnek sayısının fazla olduğu durumlarda kullanılabilen bir diğer serolojik yöntem olan ELISA, zaman tasarrufu açısından oldukça faydalı bir serolojik tanı yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. IFAT'a kıyasla; çok örneğin daha kısa sürede incelenebilmesi, sonuçların kişiden kişiye değişmemesi (subjektif olmaması) ve özgüllüğünün yüksek olması bu yöntemin en önemli avantajlarından (Mosqueda ve ark, 2012). *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens*, *B. caballi*, *B. canis*, *B. gibsoni*, *B. microti* gibi çeşitli *Babesia* türlerinin tespitine yönelik olarak geliştirilmiş değişik ELISA çeşitleri bulunmaktadır (Purnell ve ark, 1976;

O'Donoghue ve ark, 1985; Weiland, 1986; Waltisbuhl ve ark, 1987). Enfekte hayvanın kanından saflaştırılmış ham antijenlerin kullanıldığı bu yöntemlerde serum proteinleri ile çapraz reaksiyon ihtimali oldukça yüksektir (Morzaria ve ark, 1992). Son yıllarda ise; rekombinant antijen ve monoklonal antikoların kullanıldığı ELISA testleri geliştirilmiş, böylece özgüllük artırılırken, spesifik olmayan bağlanmalar ve sinyaller azaltılmıştır. Biyoteknoloji alanındaki gelişmeler patojen ajanlara ait antijenik proteinlerin ekspresyonuna olanak sağlamıştır. Böylece, ELISA kuyucuklarına bağlanan bu antijenler de, genellikle peroksidaz enzimi ile konjuge olan IgG'leri kullanarak anti-*Babesia* antikolarının saptanmasına yardımcı olmaktadır (Böse ve ark, 1990; Fukumoto ve ark, 2001a; Boonchit ve ark, 2002). Ancak bu indirekt ELISA yönteminde, özellikle sığır babesiosisinin tanısı amacıyla bakterilerde eksprese edilen proteinlerin elde edilmesi sırasında bu proteinlerin bakteriye ait proteinlerle birlikte saflaştırılması problemlerinden bahsedilmektedir. Bu da güçlü bir arka plan sinyaline sebep olarak yorumlama ve standardizasyon güçlüklerine sebep olabilmektedir. Bunun çözümüne yönelik bir yaklaşım olarak da; hedef proteindeki korunmuş epitopa karşı olan monoklonal antikor kullanımı ve rekabetçi (competitive) ELISA (cELISA) uygulamalarından bahsedilmektedir. Bu yöntemin *B. bovis*, *B. bigemina* ve *B. caballi* tanısı için geliştirildiği ve onaylandığı bazı çalışmalar (Kappmeyer ve ark, 1999; Goff ve ark, 2003; 2006; 2008) bulunmaktadır.

Bu bahsedilen tanı yöntemlerine alternatif olarak son yıllarda özellikle sahada kullanılabilecek hızlı ve pratik, kullanışlı bir yöntem olan immunokromatografi testi (ICT) geliştirilmiştir. Uygulaması ve yorumlaması kolay, özel bir donanım ve tecrübeli bir personel gerektirmeyen ICT, aynı zamanda diğer yöntemlere göre düşük maliyet avantajına da sahiptir. Farklı sıcaklık şartlarında stabillitesini koruyabilen bu test ile 10-15 dakika içerisinde sonuç alınabilmektedir (Wongsrichanalai ve ark, 2007; Weigl ve ark, 2008). Bu test, nitrosellüloz membran temelli test stripleri aracılığıyla 200 µl'den bile az hacimlerdeki serumda spesifik antijenlere karşı gelişen antikoların tespitine dayanan bir tanı yöntemidir (Kim ve ark, 2008). ICT bugüne kadar *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. caballi*, *B. gibsoni* ve *B. microti* tanısı için geliştirilmiş ve hepsinde hızlı poliklonal antikolar kullanılmıştır (Verdida ve ark, 2005; Huang ve ark, 2006; Jia ve ark, 2007; Kim ve ark, 2007a; Lu ve ark, 2011). Bu yöntem ile elde edilen sonuçların diğer serolojik yöntemlerle de karşılaştırılarak, uyumluluğunun % 85-100 oranlarında bulunduğu bildirilmektedir (Mosqueda ve ark, 2012). Tüm bu olumlu özellikleri sayesinde bu yöntemin özellikle de gelişmekte olan ülkelerde, babesiosis gibi saha şartlarında hızlı sonuç almayı gerektiren hastalıklar için geleceğin tanı yöntemi olacağından bahsedilmektedir (Mosqueda ve ark, 2012).

Türkiye’de de *B. ovis*’in serolojik tanısında kullanılacak proteinlerin araştırılmasına yönelik bazı çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalardan birinde *B. ovis*’e özgü beş adet immunoreaktif protein saptanmış ve bunların antijenik aktivite oranları % 25-100 arasında bulunmuştur. Bu proteinlerin tanı amaçlı kullanımına ilişkin daha detaylı çalışmalara gereksinim duyulduğu bildirilmiştir (Sevinç ve ark, 2013). Bir diğer çalışmada *B. ovis*’in BoSA1 (*B. ovis* secreted antijen 1) proteinini kodlayan gen bölgesi tanımlanmış ve karakterizasyonu yapılmıştır. Ayrıca bu rekombinant BoAS1 antijeninin ELISA’da anti-*B. ovis* antikoları ile güçlü bir tepkimeye girdiğinin saptandığı bildirilmiştir (Sevinç ve ark, 2015).

### 2.9.2.3. Babesiosisde Moleküler Tanı

Moleküler tanı metodları, parazite ait nükleik asitlerin tespitini amaçlayan yöntemler oldukları için mikroskopik ve serolojik yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda oldukça sağlıklı sonuçlar alma imkânı sunmaktadırlar. Nükleik asitlerin tespitinin, parazitin tespiti için indirekt bir yol olmasından dolayı bu yöntemler indirekt tanı yöntemleri arasında geçmektedir. Buna karşın moleküler metodlar yüksek bir duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Geçtiğimiz yıllarda diğer patojen ajanlar için olduğu gibi *Babesia* türlerinin de gerek vektör gerekse de omurgalı konaktaki tespitine yönelik çeşitli moleküler tanı yöntemleri geliştirilmiş ve geliştirilmeye de devam edilmektedir. *Babesia* türlerinin tanısına yönelik olarak kullanılan moleküler yöntemlerin başlıcaları arasında; DNA prob hibridizasyonu, restriction fragment length polymorfizm (RFLP), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), reverse line blot hibridizasyon (RLB), random amplified polymorphic DNA (RAPD), gerçek zamanlı PCR (Real-Time PCR), loop mediated isothermal amplification (LAMP) sayılabilmektedir (Wagner ve ark, 1992; Homer ve ark, 2000; Lew ve Jorgensen, 2005; Mosqueda ve ark, 2012).

Enfekte hayvanın kanındaki *Babesia* türlerinin tanısı amaçlı geliştirilen ilk moleküler metod, DNA problemleri yöntemidir. Bu amaçla ilk olarak DNA izole edilir, saflaştırılır ve radyoaktif bir belirteç ile (marker) işaretlenerek klonlanır. İşaretlenmiş olan tek zincirli DNA, dokudaki veya bir membrandaki DNA’ya hibridize edilir. Bu DNA parçasına yalnızca onun tamamlayıcısı olan DNA’nın bağlanabilmesi sayesinde yüksek bir özgüllük sağlanmış olur. Bu da istenen parazitin tanınması ve sağlıklı tanısı için çok önemlidir. Sonrasında ise bu bağlanma; otoradyografi, kimyasal ışıldama (chemiluminesence) veya kolorimetrik madde

yardımıyla görüntülenebilir (Mosqueda ve ark, 2012). Örneğin; *B. bovis* tanısı amacıyla McLaughlin ve ark (1986) tarafından klonlanmış radyoaktif bir prob geliştirilmiş ve bu prob 'dot blot hibridizasyon' yönteminde kullanılmıştır. Bu yöntemle 100 pg *B. bovis* DNA'sı tespit edilebilmektedir. Yine DNA problemleri kullanılarak *B. bovis*'in farklı virulense sahip alt türleri belirlenebilmiştir (Carson ve ark, 1990). Bir diğer çalışma kapsamında tasarlanan radyoaktif, tekrarlı DNA problemleri kullanılarak 10 pg *B. bigemina* DNA'sı (yaklaşık 150 adet enfekte eritrosite eşit) tespit edilebilmiştir (Buening ve ark, 1990). Bunlara benzer şekilde başka *Babesia* türleri için de radyoaktif DNA problemleri geliştirilmiş olsa da, yüksek radyasyon tehlikesi, kullanılan radyoaktif materyalin sınırlı radyoaktivite süresi ve yüksek maliyet gibi dezavantajlar nedeniyle bu yöntem standart bir tanı metodu haline gelememiştir (Mosqueda ve ark, 2012). Sonraları radyoaktif olmayan problemler geliştirilerek kimyasal ışımaya ve kolorimetrik olarak görüntülediği yöntemler kullanılmıştır (Figueroa ve ark, 1992a; Conrad ve ark, 1992). Bu yöntemlerin yüksek duyarlılıkları, taşıyıcı hayvanların tespiti için de önem taşımaktadır (Ramos ve ark, 1992). Ayrıca etkenlerin vektör kenedeki varlığı da bu yöntemlerle saptanabilmektedir (Hodgson ve ark, 1992). Buna karşın; metodun tamamlanmasının birkaç gün sürmesi, bu konuda yetişmiş özel teknisyen ve problemlerin sürekli işaretlenmesi gerekliliği gibi zorluklar, bu yöntemin diğer dezavantajları arasında sayılabilmektedir (Mosqueda ve ark, 2012).

Günümüzde de gerek tanı gerekse epidemiyolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaya devam edilmekte olan bir diğer moleküler tanı yöntemi de PCR'dır. Bu yöntem ile hedeflenen organizmanın genomundaki belirli ve özgül bir DNA bölgesi in vitro ortamda tekrar tekrar çoğaltılarak tespit edilmesi kolaylaştırılmaktadır. Standart PCR yöntemleri ile bir pg miktarındaki DNA'nın varlığı saptanabilirken, daha da geliştirilmiş bir yöntem olan nested-PCR ile 1 fg'luk DNA bile tespit edilebilmektedir (Böse ve ark, 1995). *Babesia* türlerinin PCR ile tanısına yönelik olarak ilk çalışmalar 1992 yılında bildirilmişlerdir. Aynı yıl içerisinde *B. bovis* (Fahrimal ve ark, 1992), *B. bigemina* (Figueroa ve ark, 1992b) ve *B. microti*'nin (Persing ve ark, 1992) PCR ile tanısına yönelik çalışmalar yayınlanmıştır. Ayrıca iki primer çiftinin ard arda PCR'lar yapılarak kullanıldığı nested-PCR yöntemi kullanılarak daha duyarlı sonuçlar da alınmıştır. Bu yöntem kullanılarak *B. bigemina* ile enfekte yalnızca bir eritrosit ve *B. microti* ile enfekte üç eritrosit gibi çok düşük parazitemili taşıyıcı hayvanlar tespit edilebilmiştir (Figueroa ve ark, 1992; Persing ve ark, 1992). Daha sonra nested-PCR, işaretli problemlerle birlikte (kombine) kullanılarak duyarlılığı daha da artırılmıştır. Örneğin *B. bovis*'in tespitinde nested-PCR  $10^6$  eritrosit içerisindeki bir adet paraziti tespit edebilirken, işaretli problemlerle kombine edilerek yapılan nested-PCR ile  $10^9$  eritrosit içerisindeki bir adet parazit

saptanabilecek kadar duyarlılığının arttığı görülmüştür (Figuroa ve ark, 1994). Bu avantajlara karşın nested-PCR yönteminin tek basamaklı (bir çift primer) PCR'a göre daha maliyetli, daha uzun zaman gerekliliği ve kontaminasyon riskinin daha yüksek olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (Mosqueda ve ark, 2012). Tek basamaklı PCR'ın oldukça duyarlı sonuçlar verdiği çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin Fahrimal ve ark (1992)'nin yukarıda da bahsedilen çalışmasında tek basamaklı PCR'ın işaretli problemlerle birlikte kullanımında 500 µl kan içerisindeki *B. bovis* ile enfekte 10 eritrositin tespit edilebildiği bildirilmiştir. Benzer şekilde, 10<sup>9</sup> eritrosit içerisinde iki adet *B. bigemina*'nın tespit edilebildiği tek basamaklı bir PCR geliştirilmiştir (Petrigh ve ark, 2008). Yine *B. gibsoni* için 1,5 µl kandaki 10<sup>9</sup> eritrosit içerisinde iki parazit (Fukumoto ve ark, 2001b) ve *B. ovis* için 10<sup>8</sup> eritrositteki bir parazitin tespit edilebildiği (Aktaş ve ark, 2005) çalışmalar bulunmaktadır. Benzer çalışmalar *B. caballi* ve *B. canis* için de yapılmıştır (Alhassan ve ark, 2005; Duarte ve ark, 2008). Yine benzer şekilde insanlarda *B. divergens*'in tanısına yönelik PCR tabanlı tanı yönteminin geliştirildiği bir çalışma da bulunmaktadır (Olmeda ve ark, 1997). Bu yöntemler duyarlılık ve özgüllüklerini dolayısıyla güvenilirliklerini günümüzde hala korumaya devam etmektedirler. Ancak zaman alan, maliyetli ve tecrübeli personel gerektiren yöntemlerdir. Ayrıca bu yöntemlerin optimizasyonlarıyla ilgili daha fazla çalışmalara olan ihtiyaçtan da bahsedilmektedir (Mosqueda ve ark, 2012).

Bir başka tanı yöntemi olan RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) metodu ile belirli bir türe veya suşa özgül, prob olarak da kullanılabilen DNA bölgeleri saptanarak, genetik çeşitliliğin araştırılmasında ve filogenetik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Hardrys ve ark, 1992). Bu yöntem ayrıca PCR ile birlikte, türe özgü tanısal problemlerin geliştirilmesinde hızlı bir metod olarak da kullanılmıştır (Basagoudanavar ve ark, 1998; Reddy ve ark, 1998; Omanwar ve ark, 2001). Bir diğer çalışmada Ravindran ve ark (2006) tarafından RAPD-PCR'ın 873 baz çiftlik monomorfik fragmentinden elde edilen yüksek duyarlı, *B. bigemina*'ya özgü, radyoaktif olmayan ve 'digoksinin' ile işaretli bir prob geliştirilmiş ve bu prob yardımıyla 100 ng kadar bir DNA miktarının bile saptanabildiği görülmüştür.

Son yıllarda geliştirilmiş olan bir diğer PCR metodu ise, hedef DNA'nın amplifikasyonunun gerçek zamanlı olarak takip edilebildiği Real-Time PCR yöntemidir. Bu yöntemde hedef DNA bölgesi hem çoğaltılmakta hem de çoğaltıldığı anda gerçek zamanlı olarak elde edilen kopya miktarı belirlenebilmektedir. Real Time PCR yöntemine bu imkânı, amplifikasyonun gerçekleştiği her bir döngüde açığa çıkan floresan sinyal sağlamaktadır. Konvansiyonel PCR yöntemindeki gibi reaksiyon sonrası jel elektroforez ve görüntüleme gibi



aşamalara gerek duyulmaması dolayısıyla daha az zahmetli ve daha hızlı sonuç alınabilmesi bu yöntemin en önemli avantajları arasında sayılabilmektedir (Mosqueda ve ark, 2012). Ayrıca pozitif floresan sinyallerin anında termal cyclus tarafından yakalanması sayesinde, klasik PCR ve jel elektroforeze göre dört kat daha duyarlı sonuçlar elde edilebildiği bildirilmiştir (Chiang ve ark, 1996). Bu yöntemin de kendi içerisinde SYBR Green veya TaqMan problemlerinin kullanılabilirdiği farklı formatları mevcuttur. Real time PCR'ın *Babesia* türleri için ilk kullanımında *Babesia bigemina* rap-1 locus gen bölgesinin hedeflendiği SYBR Green metodu geliştirilmiştir (Suarez ve ark, 2003). Sonrasında diğer bazı *Babesia* türlerinin tanısı amacıyla bu yöntemin kullanıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Matsuu ve ark, 2005; Buling ve ark, 2007; Kim ve ark, 2007b; Ramos ve ark, 2011; Yıldırım ve ark, 2013). Bu yöntemin muhtemelen tek dezavantajının donanım maliyeti olduğu, zira cihazın klasik PCR cihazından iki hatta üç kat daha pahalı olduğu bildirilmektedir (Mosqueda ve ark, 2012).

Bir diğer yararlı tanı metodu PCR-ELISA yöntemidir. *Theileria* türleri ve diğer bazı kan protozoonlarının tanısında kullanılan PCR-ELISA yöntemi babesiosis tanısı için de kullanılmaktadır. Bu yöntemde PCR ürünleri sabit bir tespit probuna hibridize edilmektedirler. Birden fazla hedefin tespit ve ayırt edilebilmesini sağlayan, ayrıca PCR ürünü içerisindeki materyalin sekans ölçümlerinin yapılabilmesine olanak sağlayan bu yöntemin maliyet yönünden uygun olduğundan ve Real-Time PCR'a alternatif olabileceğinden bahsedilmektedir (Salih ve ark, 2015). Bu yöntemin duyarlılığı 0,01 pg DNA (bir ml kandaki bir adet parazit) olarak saptanmış ve *B. bovis*, *B. bigemina*, *A. marginale* ve *Theileria* türlerinin kendi aralarında ve konak DNA'sı arasında herhangi bir çapraz reaksiyon şekillenmediği bildirilmiştir (Chansiri ve ark, 2002).

Birden fazla cins, tür veya suşa ait genetik materyalin kan, doku veya biyolojik bir materyal içerisindeki varlığını eşzamanlı olarak ortaya koyma konusunda ise PCR'a oranla çok daha yetkin başka bir tanı yöntemi olan reverse line blot hibridizasyon (RLB) metodu karşımıza çıkmaktadır. RLB yönteminde ilk olarak; farklı cins, tür veya suşlara özgün oligonükleotidlerin kovalent olarak bir membrandaki farklı sıralara C-6 amino bağlayıcı ile hibridize edilerek membran kullanıma hazır hale getirilmektedir. Bu işlem; membranın mini-blotter adı verilen bir aletin içerisine yerleştirilmesi ve sulandırılarak optimize edilmiş oligonükleotidlerin blotterdaki uygun kuyucuklara yüklenmesi şeklinde yapılmaktadır. Membran hazırlandıktan sonra ise şüpheli örnekler için DNA'ların biotin ile işaretli primerler kullanılarak PCR ile amplifiye edildiği PCR ürünleri, oligonükleotidlerin dizilişine dik olacak şekilde membrana yine mini-blotter yardımıyla yüklenmektedir. Böylece şüpheli örnek içerisindeki amplifiye edilmiş olan hedef DNA bölgesi, membrana önceden hibridize edilmiş

özgül oligonükleotid ile eşleşmesi durumunda ona bağlanacaktır. Sonrasında ise streptavidin-peroksidaz ile konjugasyon aşaması ve şemiluminesans substrat ilavesi ile ortaya çıkan sinyal görüntülenerek şüpheli örneklerin enfeksiyon durumları ortaya konmaktadır (Mosqueda ve ark, 2012). Bu yöntem ilk olarak orak hücreli aneminin (Saiki ve ark, 1988), sonra çeşitli *Streptococcus* serotiplerinin (Kaufhold ve ark, 1994) ve *Borrelia* genotiplerinin (Rijpkema ve ark, 1995) ortaya konulması amacıyla kullanılmıştır. Sonrasında *Theileria* ve *Babesia* türlerinin tanısı için geliştirilmiş ve bu amaçla pek çok çalışmada kullanılmıştır (Gubbels ve ark, 1999; Almeria ve ark, 2002; Schnittger ve ark, 2004; Niu ve ark, 2009). Eş zamanlı olarak çok sayıda örneğin, çok sayıda cins, tür veya suş açısından incelenebilmesi ve bir membranın hazırlandıktan sonra birden çok defa (10-20) kullanılabilmesi dolayısıyla maliyetin düşmesi, bu yöntemin en önemli avantajlarından sayılabilmektedir (Mosqueda ve ark, 2012). Ayrıca, Yıldırım ve ark (2013) tarafından 400 adet sığır kan örneğinin kullanıldığı ve RLB'nin Real Time PCR ile karşılaştırıldığı bir çalışmada; RLB yönteminin % 88,8 hassasiyet ve % 100 özgüllüğe sahip olduğu bildirilmiş ve bu sonuçlara göre real-time PCR yönteminin RLB'ye göre daha duyarlı olduğu belirtilmiştir.

Diğer bir nükleik asit tabanlı tanı yöntemi de loop mediated isothermal amplification (LAMP) metodudur. Bu yöntemde DNA, izotermal koşullar altında, yüksek bir duyarlılık, özgüllük ve hızda çoğaltılmaktadır. LAMP, aynı hedef DNA üzerindeki altı farklı sekans bölgesini çoğaltmak amacıyla özgün olarak tasarlanmış dört primerin kullanımı esasına dayanmaktadır. Burada amplifikasyon izotermal polimeraz yardımıyla olmaktadır. Bu yöntem de amplifikasyon sonrası jel elektroforezis ve görüntüleme aşamalarını gerektirmemektedir. Kullanılan DNA polimerazın izotermal şartları gerektirmesi nedeniyle thermal cycler kullanımı zorunlu olmamakta, bu da zaman ve maliyet avantajı sağlamaktadır (Notomi ve ark, 2000; Mori ve ark, 2001; Goto ve ark, 2009; Mosqueda ve ark, 2012). Bu yöntemin altı DNA kopyasını saptayabilecek kadar duyarlı olduğu bildirilmiştir (Notomi ve ark, 2000). *Babesia* türlerinin tespiti amacıyla bu yöntem; *B. gibsoni*, *B. caballi*, *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. canis* ve *B. orientalis* için kullanılmıştır (Ikadai ve ark, 2004; Alhassan ve ark, 2007b; Iseki ve ark, 2007; He ve ark, 2009; Muller ve ark, 2010). Sığırlarda parazitlenen *Babesia* türleri için yapılan bir çalışmada Multipleks LAMP (mLAMP) yöntemi kullanılmış ve *B. bovis* ile *B. bigemina* türleri eş zamanlı olarak saptanabilmiştir. mLAMP tekniği kullanılarak *B. bovis* ve *B. bigemina* rhoptri-ilişkili protein-1 genleri için LAMP primerleri tasarlanmış, restriksiyon enzim analizini takiben bu türler eş zamanlı olarak ortaya konmuştur. mLAMP yönteminin duyarlılığı klasik PCR metodları ile karşılaştırıldığında *B. bovis* için  $10^3$ , *B. bigemina* için  $10^5$  kez daha hassas olduğu tespit edilmiştir

(Iseki ve ark, 2007). Yine bu yöntem ile *B. bovis* ve *B. bigemina* türlerinin hızlı bir şekilde tespit edilerek ayırt edilmesi amaçlanan başka bir çalışmada internal transcribed spacer (ITS) genlerinin özgün sekansları hedef olarak kullanılmıştır. Çalışmada LAMP yönteminin duyarlılığı klasik PCR yöntemlerine nazaran *B. bigemina* ve *B. bovis* için 0,1 pg DNA şeklinde saptanmıştır (Liu ve ark, 2012). Tüm bu anlatılanlardan yola çıkılarak özellikle laboratuvar ve teknik donanım gibi eksiklikleri olabilen gelişmekte olan ülkelerde, LAMP yönteminin diğer nükleik asit tabanlı tanı yöntemlerine göre daha fazla kullanım avantajlarına sahip olduğu söylenebilmektedir (Mosqueda ve ark, 2012).

## **2.10. Tedavi**

### **2.10.1. Theileriosisde Tedavi**

Pek çok hastalıkta olduğu gibi theileriosis tedavisi için de erken ve doğru tanı büyük önem taşımaktadır. Tanı konduktan sonra theileriosis tedavisinde öncelikli olarak hastalıktan sorumlu olan parazitlere yönelik ilaç kullanımı anlamına gelen etiyolojik tedavi gerekmektedir. Sığırlarda *T. annulata* enfeksiyonlarının tedavisinde geçmişte çeşitli etken maddeler kullanılmıştır. Bunlardan bazıları; arsenik preparatları, antimon ve bizmut bileşikleri, gümüş bileşikleri, akridin grubu bileşikler, üree quinoleine biguanide deriveleri, 4 ve 8-amino qinoleine deriveleri, diazo-aminobenzol deriveleri, sulfonamidler, antibiyotikler ve bazı biyolojik maddeler olarak sayılabilmektedir. Bunlara ilaveten geçtiğimiz 30-35 yıllık dönemde naphthoquinonlar (menoctone, parvaquone ve buparvaquone) ve halofuginon ile yapılan tedavi çalışmalarından başarılı sonuçlar alındığı, özellikle buparvaquone'un şimdiye kadar kullanılan antitheilerial ilaçlar arasında en etkili olduğu, ayrıca hastalıktan korunmada da etkisinin bulunduğu bildirilmiştir (Gül ve ark, 1991). Buna karşın; Menocton'un oldukça etkili olmasına rağmen pahalı olduğu ve Halofuginon'un da tedavi dozuna oranla oldukça toksik olduğu bildirilmiştir (McHardy ve ark, 1976; Schein ve Voigt, 1979). Sığırlarda gerek *T. annulata* gerekse *T. parva*'dan kaynaklanan enfeksiyonların tedavisinde günümüzde de kullanılmaya devam eden en etkili etken maddenin buparvaquon olduğu, buparvaquonun parvaquona göre birkaç kat daha etkili olduğu ve bu maddelerin parazitin hem şizont hem de piroplazmik formlarına karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Genellikle kas içi 2,5-5 mg/kg'lık dozların tek uygulamada etkili olduğu, ancak bazı vakalarda ikinci dozun da gerekebileceği

bildirilmektedir (McHardy ve ark, 1985; Dhar ve ark, 1986; Dolan ve ark, 1992; Singh ve ark, 1993; Yukarı, 2004). Parvaquon ise kas içi 20 mg/kg tek doz veya 48 saat arayla 10 mg/kg şeklinde iki doz olarak uygulanabilmektedir (Mehlhorn, 2008; Yukarı, 2004). Ayrıca buparvaquonun *T. annulata* ve *T. parva*'nın yanı sıra *T. lawrenci* ve *T. orientalis*'in sorumlu olduğu klinik enfeksiyonların tedavisinde de etkili olduğu bildirilmektedir (Preston, 2001). Ancak tüm bunların yanında, hem naphthoquinone (parvaquone-buparvaquone) hem de quinozolinone (halofuginone lactate veya hydropromide) grubu ilaçların hastalığın başlangıç safhasında uygulandığında etkili olduğu, ilerlemiş safhalarda ise tedavi başarısının azaldığı bildirilmektedir (Karagenç ve Bilgiç, 2013). Ayrıca buparvaquonun theileriosis karşı uzun yıllardan beri kullanılmakta olan tek ilaç olmasından dolayı endemik bölgelerde ilaca karşı oluşmuş olabilecek muhtemel bir direnç nedeniyle tedaviye tam bir yanıt alınmadığı da söylenmektedir (Karagenç ve Bilgiç, 2013). Bu ilaçlara alternatif olarak Mirzaei (2007), *T. annulata* ile doğal enfekte 50 sığırın tedavisi amacıyla *Peganum harmala* bitkisinin ekstraktını beş gün boyunca günde beş mg/kg dozda kas içi yolla uygulamış ve 39 sığırı (%78) başarıyla tedavi ettiğini, diğer hayvanların ise tedaviye cevap vermeyerek öldüğünü bildirmiştir. Theileriosis tedavisinde antibesial ilaçların fazla etkili olmadığı bilinmesine karşın, primaquin diphosphate ve imidocarb dipropionate'ın *T. orientalis* ve *T. sergenti*'nin sorumlu olduğu enfeksiyonlarda parazitemi azaltabildiğinden bahsedilmektedir (Mehlhorn, 2004). Koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* türlerinin sorumlu olduğu enfeksiyonlarda da benzer şekilde; parvaquone (kas içi, bir doz 20 mg/kg), buparvaquone (kas içi, iki doz 2,5 mg/kg) veya halofuginon (oral, bir doz 1,2 mg/kg) kullanılabilir (Karatepe ve Karatepe, 2013a). Theileriosisde etiyolojik tedaviye ek olarak semptomlara yönelik tedavi de gerekebilir. Demir bileşikleri, karaciğer preparatları, B kompleksleri ve kalp destekleyici ilaçların kullanımı ile bakım ve besleme koşullarının iyileştirilmesi gibi tedbirler önerilmektedir (Mimioğlu ve ark, 1969).

### **2.10.2. Babesiosisde Tedavi**

Doğru tanı konulduktan sonra, babesiosis tedavisinde de yine benzer şekilde etiyolojik sağaltıma yönelik ilaç kullanımı ön plana çıkmaktadır. Bu amaçla; azo-naphthalene boyaları (trypan blue), akridin deriveleri, diamidinler (imidocarb dipropionate, amicarbalide), aromatik diamidinler (phenamidine diisethionate, pentamidine diisethionate, diminazene aceturat), amino-quinolinler (primaquine diphosphate), tetrasiklinler (oksitetrasiklin, chlortetrasiklin),

macrolide antibiyotikler (clindamycin), ürea deriveleri (quinorium sulphate) ve hydroxynaphthoquinler (parvaquone) gibi etken maddeleri içeren ilaçlar sayılabilmektedir (Uilenberg, 2001; Mehlhorn, 2008b). Bu bileşiklerden bazıları oldukça spesifik ve etkili olmasına karşın, birçoğu da çeşitli sebeplerden dolayı kullanımdan kaldırılmıştır. Bu nedenle babesiosis sağaltımı amacıyla her ne kadar çok çeşitli etken madde bulunmakta olsa da etiyolojik tedavi için kullanılacak antibabesial ilaç sayısı oldukça sınırlıdır (Uilenberg, 2001). Örneğin geçmişte *B. bigemina* ve diğer büyük *Babesia* türlerine karşı spesifik olarak kullanılmış olan ilk ilaç trypan blue olmuş, ancak kas içi uygulama ile karkas, vücut sıvıları ve sütü maviye boyaması sebebiyle kullanımı sınırlanmıştır (Mehlhorn, 2008b). Avrupa'daki pek çok ülkede uzun seneler boyunca sığır babesiosisine karşı quinuronium sulfate, amicarbalide, diminazene aceturate ve imidocarb dipropionate kullanılmıştır. Ancak quinuronium sulfate ve amicarbalide üretim güvenliği nedeni ile piyasadan kaldırılmıştır. Diminazene aceturate ise babesiosis ve trypanosomiasis sağaltımı için tropik bölgelerde geniş kullanım alanı bulmuş ancak ticari sebeplerden ötürü Avrupa'da piyasadan geri çekilmiştir (Zintl ve ark, 2003; Vial ve Gorenflot, 2006). Oksitetrasiklinlerin de virulent saha enfeksiyonlarına karşı çoğunlukla etkili olmadığı bilinmektedir (Bock ve ark, 2004). Ayrıca Türkiye'de de uzun yıllar kullanılmış olan quinorium sulphate (eski Acaprin) zararlı etkileri nedeniyle yasaklanmıştır. Etken madde olarak imidocarb içeren yeni Acaprin ise 2004 yılından itibaren Türkiye'de kullanıma sunulmuştur. Türkiye'de babesiosis sağaltımı amacıyla günümüzde diminazene aceturat ve imidocarb etken maddeli preparatlar kullanılmaktadır. Diminazene 2-3,5 mg/kg dozunda derin kas içi enjeksiyon şeklinde tüm hayvanlarda kullanılabilir. Sığırlarda *B. bovis* ve *B. bigemina* enfeksiyonlarında da 3-5 mg/kg dozunda kas içi olarak kullanılmaktadır. Yalnız ilaç uygulamasından yarım saat kadar önce kafein uygulanmasında yarar görülmektedir. İlaç uygulaması yapılan hayvanın sütünün üç, etinin ise 20 gün kadar tüketilmemesi gerekmektedir. Hem tedavi hem de koruyucu amaçlı olarak günümüzde de en sık kullanılan ilaç olan İmidocarb ise 1,2-3 mg/kg dozunda derin kas içi enjeksiyon veya per-os şeklinde kullanılabilir. İmidocarb'ın koruyucu dozu ise 2,4-3 mg/kg olup, ortalama iki ay kadarlık bir süre için koruma sağlayabileceği bildirilmektedir. Ayrıca yüksek dozlardaki imidocarb kullanımı ile *B. bovis* ve *B. bigemina* için taşıyıcı hayvanlardaki tüm etkenlerin elimine edilebileceği ve bu yüzden de canlı aşı uygulanması sonrası gelişmesi beklenen bağışıklığın engellenebileceği de bildirilmiştir (Bock ve ark, 2004; Yukarı, 2004; Karaer ve Nalbantoğlu, 2005; Mehlhorn, 2008b). Kullanılmakta olan ilaçlara karşı parazit tarafından geliştirilebilecek olan direnç nedeniyle tedavi amaçlı yeni etken maddelerin geliştirilmesi çalışmaları da devam etmektedir. Bu amaçla sığır, koyun-keçi, at,

köpek ve insanlarda parazitlenen çeşitli *Babesia* türlerine karşı; nerolidol, artesunate, triclosan, epoxomicin, gossypol ve atovaquone gibi etken maddeler üzerindeki araştırmalar sürmektedir (Mosqueda ve ark, 2012). Tüm bunların yanı sıra, etiyojik tedavinin yeterli olmadığı şiddetli babesiosis vakalarında kan nakli uygulaması, yangı önleyici ilaçların kullanımı, kenelerin uzaklaştırılması, demir preparatları, dekstroz, vitaminler (özellikle B kompleks), purgatiflerin uygulanması, sıvı değişimi gibi destek tedavilere de ihtiyaç duyulabilmektedir (Kuttler, 1984; Homer ve ark, 2000; Zintl ve ark, 2003; Mosqueda ve ark, 2012).

## **2.11. Korunma ve Kontrol**

Özellikle son yıllarda önemi daha da fazla anlaşılmakta olan koruyucu hekimlik anlayışının dikkat çekmiş olduğu gibi, gerek insan ve gerekse hayvan sağlığında önemli olan, hastalıklara yakalanmadan önce koruyucu önlemlerin alınması ve hastalıkların her aşamasıyla kontrol altında tutulabilmesidir. Bu konu theileriosis ve babesiosis gibi önemli kayıplardan sorumlu vektör kaynaklı hastalıklar için de son derece önem arz etmektedir. Vektör aracılı bu tarz parazitler hastalıklardan korunma ve kontrolde; parazit, vektör ve çevre arasındaki ilişkilerin iyi bilinmesi ve önlemlerin bu bilgiler ışığında düşünülmesi gerekmektedir (Eshetu, 2015). Bu anlamda her iki hastalık için benzer veya farklı olarak çeşitli korunma ve kontrol yöntemleri geliştirilmiş ve geliştirilmeye de devam etmektedir. Bu bölümde bu yöntemler hakkında kısaca bilgiler verilmeye çalışılmıştır.

### **2.11.1. Theileriosisde Korunma ve Kontrol**

Theileriosisden korunma ve kontrolde başvurulacak önlemler; bilimsel bir mera yönetim organizasyonu, dirençli ırklardan oluşan sürülerin seçimi, kene mücadelesi (düzenli akarisit uygulamaları), karantina (özellikle enzootik olarak stabil olan ve olmayan bölgeler arasındaki hayvan hareketlerinde), hayvanlarda hastalığa karşı bağışıklık şekillendirme metodları (canlı, atenüye aşılardan veya enfeksiyon ve tedavi yoluyla), kemoprofilaksi ve kemoterapi olarak sayılabilmektedir (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Preston, 2001; Yukarı, 2004; Mehlhorn, 2008a; Darghouth, 2008; Eshetu, 2015).

Hastalıktan korunmada uzun zaman zarfında etkili olabilecek olan önemli bir yöntem, parazite veya vektör kenelere karşı dirençli ırkların endemik bölgelere yerleştirilmesidir. Avrupa'dan ithal getirilen sığır ırklarının yerli ırklara oranla *T. annulata*'ya karşı daha duyarlı oldukları görülmüştür (Darghouth ve ark, 1999). Ayrıca yapılan bazı çalışmalarla da ırklar arasında hastalığa karşı duyarlılık ve dirençlilik farklılıkları bulunduğu gösterilmiştir (Preston ve ark, 1992; Bakheit ve Latif, 2002; Glass ve ark, 2005; 2012). Bu nedenle çeşitli ülkelerde bu yöntemin uygulandığı örneklerle karşılaşmaktadır. Örneğin Hindistan'da bu şekilde hastalığa karşı duyarlı ithal hayvanların sayısının azaltılarak dirençli ırkların yetiştirilmesi esasına dayanan bir program uygulanmış ve bu sayede tropikal theileriosis yaygınlığı azaltılabilmektedir (Glass ve ark, 2005). Ancak bu yöntemin bazı zorlukları da bulunmaktadır. Hem hastalığa karşı dirençli hem de yüksek verimli ırkların seleksiyonu ve yetiştirilmesi oldukça zor bir iştir. Bunun dirençten sorumlu genlerin belirlenerek yüksek verimli ırklara aktarılması ile sağlanabileceği belirtilmiştir (Spooner ve Brown, 1991).

Vektör kenelerin yaygın olduğu bölgelerde theileriosis de yaygın olarak görülmektedir. Mevsimlere göre kene aktivitesine bağlı olarak, hastalık genellikle ilkbahar ve yaz aylarında ortaya çıkmaktadır (Yukarı, 2004). Kene mücadelesi özellikle enzootik stabilitenin (parazit, omurgalı konak ve vektör kene arasında denge bulunmayan) olmadığı bölgeler için ön plana çıkmakta ve öncelikle hayvanların akarimid uygulamaları ile kene enfestasyonlarına karşı tedavi edilmesi ve korunması esasına dayanmaktadır. Kene mücadelesinde amaç duyarlı hayvanlar ile vektör kenelerin temasının kesilerek hastalık etkeni olan parazitlerin bu yeni hayvanlara naklinin önlenmesidir. Çiftlik hayvanları ve bunların yaşam alanları periyodik olarak organofosfatlar, karbamatlar, avermektinler veya piretroidler gibi etken maddeler içeren solüsyonlar veya emülsiyonlar ile sprey, dökme, damlatma, serpme, hap, enjeksiyon veya banyo tarzında uygulamalar yapılarak kenelere karşı korunmalıdır. Ancak kenelerin akarimid olarak kullanılan geniş spektrumdaki kimyasallara karşı hızlı bir direnç geliştirme özelliğine sahip olmaları nedeniyle bir bölgede uzun süre aynı akarimidlerin kullanılması sonucu oluşan akarimid direnci bu konuda karşılaşılan problemlerden biridir. Ayrıca sürekli ilaç kullanımı da bölgede enzootik instabilite şekillenmesi sebep olabilmektedir. Akarimid kullanımı ekstra maliyet ve çevre kirliliği konularını da beraberinde getirmektedir. Bu yüzden bilinçli ilaç kullanımı önemlidir. Bu konudaki bir diğer kısıtlama ise kullanılan kimyasalların tüketime sunulan et ve sütü kontamine ederek kalıntı bırakabileceği ile ilgili giderek artan hassasiyetlerdir. Kenelere karşı uyarıcı bağışıklık şekillendirme metodlarının geliştirilmesi ve bunların akarimidlerle birlikte kullanımı için yapılan çalışmalar bu konuda daha akılcı sonuçlar alınmasına yardımcı

olacaktır (Brown, 1990; Norval ve ark, 1992; Preston, 2001; Mehlhorn, 2008a; Karagenç ve Bilgiç, 2013; Eshetu, 2015). Kenelere karşı kimyasal kullanımının yanında ağır, ağıl gibi hayvan barınaklarında sıklıkla karşılaşılabilen yarık, çatlak, delik gibi kenelerin saklanabileceği ve yumurta bırakabileceği yaşam alanlarının sıvanıp, kapatılarak ortadan kaldırılması da kene mücadelesinin önemli basamaklarından biridir. Bunların yanı sıra theileriosis kontrolünde, enzootik stabilite bulunan bölgelerdeki bu stabil durumun korunmasının da önemli olduğu bilinmektedir. Etken, omurgalı konak ve vektör kene arasında denge bulunan ve bu yüzden klinik olgu görülmeyen böyle endemik stabil bölgelerde, hayvanlar bilinçli olarak bir miktar kene enfestasyonuna maruz bırakılmak suretiyle etkenlerin sürekli olarak hayvanlara verilmesi amaçlanır. Böylece bu hayvanların etkenlere karşı kontrollü bir bağışıklık şekillendirmeleri sağlanarak hastalıktan korunulmuş olur (Brown, 1990; Yukarı, 2004; Mehlhorn, 2008a). Böyle bölgelerde enfeksiyon genellikle subklinik ve semptomsuz seyretmekle beraber buraya dışarıdan duyarlı hayvanların getirilmesi yeni gelen hayvanları ciddi bir enfeksiyon tehlikesi içine atmak anlamına gelmektedir. Buna karşın duyarlı hayvan ve kenelerin bulunduğu fakat parazitlerin bulunmadığı endemik instabil bölgelerde ise dışarıdan taşıyıcı bir hayvanın kontrolsüzce getirilmesi duyarlı olan tüm sürünün tehlikeye atılması demektir (Yukarı, 2004).

Vektör kenelerle akarisitler yoluyla yapılan mücadeleye alternatif olarak son yıllarda omurgalı konağı keneden koruma amaçlı olarak kene aşısı üzerinde yürütülen çalışmalar söz konusu olmaktadır. Bu amaçla kullanılan ilk antijen, rekombinant *Rhipicephalus microplus* Bm86 antijeni olmuş ve Latin Amerika ile Avustralya'da ticari aşılar kullanıma sunulmuştur (Canales ve ark, 1997). İlerleyen yıllarda benzer araştırmalar *Hyalomma anatolicum*, *H. scupense*, *H. excavatum*, *H. dromedarii*, *H. marginatum* gibi kene türleri üzerinde de yürütülmüştür. Bu çalışmalar; *R. microplus*'a ait Bm86 geni ile *Hyalomma* türlerine ait Bm86 homolog genleri arasında ciddi farklar olsa da, *Hyalomma* soyundaki türlerin kendi aralarındaki farkın önemsiz olduğunu ortaya konmuştur (Ben Said ve ark, 2012). Kenelere karşı aşı ile yapılacak mücadelenin kimyasal mücadele ile kıyaslandığında; maliyet, çevre kirliliği ve direnç konularında avantaja sahip olduğundan bahsedilmektedir (Willadsen, 2004).

Theileriosisten korunmada parazit kontrolü ise bağışıklık şekillendirilmesi ve tedavi edici maddelerin kullanımı esasına dayanmaktadır. Bu konudaki aşı uygulaması ilk kez Cezayir'de 1924 yılında, düşük virulanslı saha izolatları ile enfekte bir hayvanın kanının enfekte olmayan bir hayvana nakli ile tropikal theileriosise karşı korunma amaçlı olarak kullanılmıştır. Bu ilk aşılama yönteminin prensibi; enfekte edilen hayvandan alınan kanın, bir sığırdan diğerine transfüzyon yolu ile nakledilerek parazitlerin merozoit formuna dönüşme



yeteneğinin kaybolması ve hastalığa karşı korunma sağlanması şeklinde özetlenebilmektedir. Ancak aşılama amaçlı bu şekilde nakledilen kanla birlikte, kan yolu ile bulaşan diğer patojen ajanların da bu sağlıklı hayvanlara aktarılma riski bulunmakta ve bu risk de bu yöntemin güvenilirliğinin sorgulanmasına sebep olmaktadır (Sergent ve ark, 1945).

Endemik bölgelerde atenüye şizontla enfekte hücre kültürü aşıları *T. annulata* ve *T. lestoquardi* enfeksiyonlarından korunmada etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Bu iki türün şizontları verildikleri hayvanın makrofajlarında yeterli derecede çoğalarak enfeksiyondan korunmayı teşvik etmektedirler. Buna karşın *T. parva* şizontları ile enfekte hücre kültürleri aşı olarak kullanılamamaktadır çünkü koruyucu etkinliğin sağlanabilmesi için çok yüksek miktarda enfekte hücrenin verilmesi gerekmektedir. Doğu sahili hummasına karşı en başarılı bağışıklık şekillendirme yöntemi ‘enfeksiyon ve tedavi’ yöntemidir. Bu yöntemde hayvan virulent kriyoprezerve sporozoitler ile enfekte edilmekte ve eşzamanlı olarak uzun etkili oksitetrasiklin ile tedavi edilmektedir. Aşı geliştirme stratejileri, parazitin birden çok gelişim aşamasını hedef alabilen multikomponent subunit aşılarda elde edilmesini amaçlamaktadır (Uilenberg, 1981; Preston, 2001; Mehlhorn, 2008a; İmam ve Taha, 2015). Enfeksiyon ve tetrasiklinler ile tedavi yönteminin *T. annulata*’ya karşı korunmada da etkili olduğu yapılan çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Gill ve ark, 1976; Ngumi ve ark, 1992). Hastalığa karşı etkili bir bağışıklık ve korunma yöntemi olmasına karşın yüksek maliyet ve soğuk zincir gerektirmesi gibi dezavantajlar nedeniyle bu yöntem yaygın bir kullanım alanı bulamamıştır (Bilgiç, 2010).

Farklı hücrelere yönelimlerine rağmen *T. annulata* ve *T. parva*’nın patogenez ve immunobiyolojileri belirgin şekilde benzerlik göstermektedir. Sığır theileriosis etkeni olan her iki tür için de canlı aşılarda 40 yıldan uzun bir süredir kullanılmaktadır. Bu aşılarda güçlü bir koruma sağladıkları kanıtlanmış olsa da pratikteki bazı dezavantajları yaygın kullanımlarını sınırlamaktadır. Tanımlanmış parazit antijenlerinin kullanıldığı alternatif aşılarda geliştirilme çabaları parazitin sporozoit ve hücre içi şizont aşamalarına odaklanmaktadır. *T. parva* şizont antijenleri ile *T. parva* ve *T. annulata* sporozoit antijenlerini ekspres eden viral vektörlerin kullanıldığı deneysel aşılama çalışmalarında, bunları içeren aşılarda aşılanan hayvanların bir kısmında her iki parazite karşı da koruyucu etkinlik gözlenmiştir (Nene ve Morrison, 2016).

Makroşizont ile enfekte hücre kültürü (canlı-atenüye) aşılarda tropikal theileriosise karşı korunmada Türkiye’de dâhil olmak üzere çeşitli ülkelerde kullanılmaktadır (Pipano, 1997; 1989; Sayın ve ark, 2004; Karagenç ve Bilgiç, 2013). Türkiye’de bu amaçla kullanılan atenüye *T. annulata* (Ankara stok) şizont aşısı, Pendik Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü’nce üretilmekte ve 1982 yılından bu yana hayvanlara uygulanmaktadır

(Karagenç ve Bilgiç, 2013). Aşı uygulaması sonrasında kene ile enfeksiyonun olmadığı durumlarda bağışıklık 1-3,5 yıl arasında sürebilmekte ancak bazı vakalarda aşılama sonrası klinik theileriosis görülebildiği de bildirilmiştir. Bu durum aşı sonrası doğal enfeksiyonların yetersiz olduğu bölgelerde aşının tekrar edilmesi gerektiğini göstermiştir. İkinci aşılama farklı konak MHC fenotipine sahip ikinci bir aşının kullanımının daha iyi sonuçlar verebileceği bildirilmekteyse de (Pipano ve Shkap, 2006) Türkiye’de hali hazırda bir tek aşı suşu bulunmaktadır (Karagenç ve Bilgiç, 2013). Tropikal theileriosisten korunma amaçlı olarak uygulanan aşıda *T. annulata*’ya karşı şekillenen hücresel düzeydeki bağışık yanıt çoğunlukla spesifik olmaktadır. Dolayısıyla parazite ait farklı izolatlar karşı bağışıklık sağlanamadığı için heterolog suşlar ile meydana gelebilecek reenfeksiyonlar ölümcül şiddette olabilmektedirler (Karagenç ve Bilgiç, 2013). Buradan anlaşıldığı üzere kullanılan aşının koruyucu etkinliğini belirleyen faktörlerden biri de hazırlandığı hücre kültürü içerisinde yer alan parazit popülasyonlarının varlığıdır. Düşük pasajlı attenüye hücre kültürlerinde çoğunlukla birden fazla parazit popülasyonunun bulunduğu, yüksek pasajlı hücre kültürlerinde ise tek bir parazit popülasyonunun olduğu bildirilmiştir (İlhan, 1995). Aşılanan hayvanların birden fazla parazit popülasyonu ile karşılaşmasının daha iyi bir koruma sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca pasajlamanın çok uzun sürdürülmesi nedeniyle hücrelerin fazla attenüye olması sonucunda hücrelerin patojeniteleri ile birlikte aşının koruyuculuğunun da giderek azalacağı bildirilmektedir (Pipano, 1989; Wenshun ve Hong, 1994).

Tropikal theileriosise karşı korunma amacıyla parazit antijenlerine dayalı alternatif aşı geliştirme çabaları da bulunmaktadır. Bu amaçla parazitin farklı gelişim aşamalarına ait SPAG1, TAMS1-1, TAMS1-2, TASP, TASHAT gibi çeşitli antijenler tespit edilerek immunojeniteleri test edilmiş ancak henüz aşı olarak kullanılabilir düzeyde bağışık yanıt şekillendirmedikleri görülmüştür (Karagenç ve Bilgiç, 2013).

### **2.11.2. Babesiosisde Korunma ve Kontrol**

Theileriosisde olduğu gibi babesiosisde de hastalığın sağaltımından daha önemli olan konu etkili ve sürdürülebilir koruyucu önlemlerin ve kontrol stratejilerinin uygulanabilmesidir. Babesiosisden korunmak ve onu kontrol altında tutmak için gerekli önlemlerin alınması; hastalığın epizootiyolojisi, dolayısıyla hastalık etkeni olan parazit, arakonak olan vektör kene ve son konak olan omurgalı hayvan arasındaki karmaşık

etkileşimler hakkında yeterli bilgiye sahip olmayı gerektirmektedir (Mehlhorn, 2008b). Bu bilgiler ışığında günümüze kadar geliştirilmiş korunma ve kontrol stratejileri genel olarak; hayvan hareketlerinin kontrolü, hasta hayvanların tedavi edilmesi, kene kontrolü (akarisid uygulamaları ve kene aşılı ile) ve hayvanlarda bağışıklık oluşturma (enfeksiyon-tedavi yolu veya aşılama ile) başlıkları altında toplanabilmektedir (Uilenberg, 2001; Mehlhorn, 2008b).

Hastalığın önlenmesinde vektör kenelere karşı uygulanan mücadele; çeşitli etken maddeler içeren akarisidler yoluyla kimyasal olarak yapılabilen gibi biyolojik mücadele seçeneği de tercih edilebilmektedir. Biyolojik mücadele amacıyla; bakteri, mantar, protozoon, virus, nematod ve insekt gibi bazı biyolojik ajanlar veya feromonların kene popülasyonlarının kontrol altında tutulabilmesi amacıyla kullanılması söz konusudur. Ancak günümüzde biyolojik mücadelenin etkinliği henüz oldukça sınırlı ve daha az umut verici olarak görülmektedir (Mehlhorn, 2008b; Düzlü ve İnci, 2013).

Kimyasal mücadelede ise; sert ve yumuşak kene türlerine karşı klorlu hidrokarbonlar, organofosfatlar, karbamatlar, diamidinler, sentetik piretiroidler ve avermektinler gibi çeşitli kimyasal grublara ait pestisitler kullanılmaktadır. Adı geçen bu ilaç gruplarının keneler üzerindeki etki ettikleri sistemler ve etki mekanizmaları farklılıklar göstermektedir. Örneğin; gelişim düzenleyici olan fluazuron, kenelerde kitin şekillenmesini baskılamaktadır. Bunun etkisi ile doymuş dişiler tarafından larva şekillendirme kabiliyetindeki yumurta çıkarma miktarı azalmakta ve bu da çevresel kene kontaminasyonunu azaltmaktadır. Ayrıca bazı helmint ve insektlere karşı kullanılmakta olan closantelin kenelerde yumurtlama ve yumurtadan larva çıkma oranlarını negatif olarak etkilediğinden de bahsedilmektedir (Mehlhorn, 2008b). Buna karşın *B. divergens*'in vektörü olan *I. ricinus* gibi bazı kene türleri yaşam döngülerini birkaç yabancı ve evcil hayvan türünden beslenerek tamamladıkları için yalnızca evcil omurgalı konakta yapılacak ilaç uygulamaları kene kontrolü için yeterli olamamaktadır. Ayrıca yoğun akarisid uygulamaları maliyet-fayda bakımından dezavantajlı olmakla birlikte kenelerin direnç geliştirmesine de sebebiyet vermektedir (Uilenberg, 2001). Pek çok ülkede kenelerin ilaçlara karşı (makrolitik laktonlar hariç) direnç geliştirmesi sorunu ve ilaçların hayvansal gıda maddelerinde bıraktıkları kalıntılar yüzünden halk sağlığı problemleri yaygın olarak görülmektedir. Bu nedenlerden ötürü belirli şartlarda ve özellikle tropik bölgelerdeki sığırların, yaşamlarının erken dönemlerinde parazitle karşılaşarak daha az duyarlı hale geldikleri 'endemik stabil' bölgelerin oluşturulması tercih edilmektedir. Dolayısıyla kene mücadelesi, direkt olarak çok sayıda kenenin enfestasyon oluşturmalarını önlemek amacıyla yapılmalı, ancak endemik stabilite durumunu bozacak ve kenelerde ilaç

direnci oluşturacak, ayrıca çevreyi de kirletecek yoğunlukta olmamalıdır (Uilenberg, 2001; Yukarı, 2004; Mehlhorn, 2008b).

Bunlara ilaveten kene mücadelesi amacıyla son yıllarda, *B. bigemina* ve *B. bovis*'in vektörü olan *R. (B.) microplus*'a karşı geliştirilmiş ve ticarileşmiş kene aşuları da kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalarla *R. (B.) microplus*'un Bm86 geni tarafından ifade edilen ve bağırsaklarında bulunan bir antijen kullanılarak rekombinant teknikler yardımıyla hazırlanan bu aşuların kenenin sayısında, fertilitite oranlarında ve doyma ağırlıklarında ciddi azalmaya sebep olduğu ortaya konmuştur. Bu aşının aynı zamanda *R. (B.) annulatus*, *B. decoloratus*, *H. anatolicum* ve *H. dromedarii*'ye karşı koruyuculuk sağlarken, *A. variegatum*, *A. cajennense* ve *R. appendiculatus*'a karşı koruyuculuğunun bulunmadığı da bildirilmiştir. Şekillenen antikor seviyelerine bağlı olarak oluşan bağışıklığın altı ay veya daha uzun süreli olabileceği söylenmektedir. Yine bir başka araştırmada *I. scapularis*'in 4D8 geni hedef alınmış ve yapılan bağışıklık çalışmasında kenelerin beslenme miktarı ve yumurtlama oranlarında önemli düşüşler olduğu kaydedilmiştir. Her ne kadar kene aşuları kene ve keneye bulaşan hastalıklar için nihai bir çözüm olmasa da entegre kontrol stratejilerinin umut vaad eden bir parçası olabileceği düşünülmektedir (Uilenberg, 2001; Mehlhorn, 2008b; Düzlü ve İnci, 2013).

Hastalıktan korunmak amacıyla uygulanabilen bir diğer yöntem premunisyon veya immunizasyon yöntemidir. Bu yöntemde enfekte bir hayvandan alınan bir miktar kan örneği kontrollü bir şekilde bağışıklık oluşturulmak istenen duyarlı hayvana enjekte edilmekte ve klinik belirtilerin oluşmasını takiben küratif dozun altında bir miktarda tedavi uygulanmaktadır. Bu amaçla kullanılan ilaçlar genellikle diminazen aseturat veya imidocarb preparatları olmaktadır. Klinik belirtilerin ortadan kaldırıldığı ve 'enfeksiyon-tedavi' olarak anılan bu yöntem sayesinde hayvanın vücudunda bir miktar parazitin canlılığını korumasına izin verilerek konağın bunlara karşı bağışıklık şekillendirmesi ve yeni enfeksiyonlara karşı hazırlıklı olması sağlanmaktadır. Bu yöntemde şekillenen bağışıklık yalnızca homolog suşlara karşı koruyuculuk sağlamaktadır. Ayrıca düşük patojeniteli parazitlerin kullanıldığı durumlarda tedavinin her zaman gerekli olmadığı da bildirilmektedir. Ancak bu yöntemde lökozis ve anaplazmosis gibi istenmeyen enfeksiyonların etkenlerinin de nakledilebilme riskinden dolayı, kullanılacak materyal çoğunlukla resmi kurumlar tarafından ve ciddi kontrol altında üretilmelidirler. Ayrıca bu yöntemin düşük, hemolitik neonatal hastalık veya şiddetli babesiosis'e neden olması gibi bazı istenmeyen yan etkileri de görülebilmektedir (Uilenberg, 2001; De la Fuente ve Kocan, 2006; Mehlhorn, 2008b).

Hastalık bakımından enzootik alanlardaki hayvanlar çoğunlukla yaşamlarının ilk altı aylık döneminde babesiosis'e karşı sözde enfeksiyon-bağışıklığı veya premunisyon kazanmış durumdadırlar. Dolayısıyla bu enzootik alanlardaki hayvanlar bölgesel bazı parazit suşlarına karşı bağışıklık şekillendirmiş olduklarından klinik enfeksiyonla pek karşılaşılmaz. Buna karşın eğer küratif ilaç dozları kullanılarak parazitler hayvanın vücudundan tamamen elimine edilirse bahsedilen bağışıklık da ortadan kalkar ve hayvanlar ölümcül enfeksiyonlara karşı duyarlı hale gelebilmektedirler (Mehlhorn, 2008b).

Aşılama, babesiosis'e karşı korunmada uygulanabilen bir başka seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle sığır babesiosisinden korunmak amacıyla Dünya'nın çeşitli bölgelerinde önceleri homolog suşlara karşı cansız aşılar kullanılmış ve nispeten korunma sağlanmış olsa da son yıllarda canlı aşılar da geliştirilmiştir. Canlı aşılar özellikle Avustralya, İsrail ve Güney Afrika'da donmuş aşı olarak kullanılmakta ve soğutulmuş aşılarla göre daha fazla dayanıklılık gösterdiği bildirilmektedir. Takip eden yıllarda ise, canlı aşıların da bazı dezavantajlara sahip olması nedeniyle rekombinant aşıların geliştirilmesi çalışmaları üzerinde durulmuştur (Düzlü ve İnci, 2013). Örneğin Avustralya'da *B. bovis*'in üç ve *B. bigemina*'nın bir suşu kullanılarak üretilen bir aşı 1996 yılından beri kullanılmakta, yine benzer şekilde Güney Afrika, Arjantin, Uruguay ve İsrail gibi ülkelerde de rekombinant aşı çalışmaları sürdürülmektedir (Bock ve ark, 1995; 2004). Ayrıca bu aşılarla alternatif olarak üzerinde çalışılmakta olan bir diğer seçenek de DNA aşı adjuvantlarıdır. Örneğin *B. bovis*'in B hücrelerinden elde edilen CpG motiflerinin IgG üretimini teşvik ettiği, aktive olmuş makrofajların da IL-12, TNF- $\alpha$  ve NO salgılayarak parazit replikasyonunu kontrol altına alarak doğal bir bağışıklık sağlamakta olduğu bildirilmiştir (Shoda ve ark, 2001).

Günümüzde koyun ve keçilerde parazitlenen *Babesia* türlerine karşı geliştirilmiş her hangi bir aşı bulunmamaktadır. Ancak *B. bovis* ile *B. ovis* arasındaki benzerliklerden yola çıkılarak sığır *Babesia* türlerinin kültivasyonu ve attenüasyonu için geliştirilen tekniklerin küçük ruminant *Babesia* türleri için de kullanılabileceği düşünülmektedir (Karatepe ve Karatepe, 2013b). Küçük ruminantlarda uygulanabilecek bir aşı bulunmaması nedeniyle özellikle endemik bölgelerde bu hayvanlarda parazitlenen *Babesia* türlerine karşı bağışıklık şekillendirebilmek amacıyla az patojen türler ile enfeksiyon ve sonrasında tedavi yönteminin kullanılabileceğinden de bahsedilmektedir (Kaufmann, 1996).

Korunma ve kontrol başlığı altında anlatılan tüm bu uygulamalardan uygun şekilde yararlanılabilmesi ve etkili sonuçlar alınabilmesi için hiç şüphesiz ki, öncelikle hastalığın endemik durumunun ve hastalıktan sorumlu olan paraziter etkenlerin hem bölgesel hem de ülke ve dünya çapında yaygınlıklarının olabildiğince güncel ve güvenilir tanı yöntemlerinden

faaydalanılarak ortaya konması gerekmektedir. Bu amaçla dünyada ve Türkiye’de her dönemin kendi teknolojisinin sunduğu imkânlar dâhilinde, insan ve hayvan sağlığını ciddi derecede olumsuz etkileyen ve ekonomik kayıplara sebep olan bu paraziter etkenlerin araştırılması amacıyla çeşitli çalışmalar yürütölmüş ve günümüzde de yürütölmeye devam edilmektedir. Tanı başlığı altında da anlatıldığı gibi; patojen ajana ait genetik materyalin (DNA, RNA) tespitini hedefleyen moleküler yöntemler de son yıllarda giderek artan bir düzeyde kullanım alanı bulmuş ve günümüzde de sıklıkla kullanılmakta olan oldukça güvenilir tanı yöntemleridir. Bu tanı yöntemleri içerisinde RLB, eş zamanlı olarak çok sayıda şüpheli örneğin çok sayıda parazit türü yönünden araştırılabilmesine olanak sağlaması nedeniyle önemli ve özel bir yere sahiptir. Bu çalışma ile de Burdur ilinde yetiştiriciliği yapılan ve hayvansal üretim konusunda önemli bir yere sahip olan sığır, koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin yaygınlıkları ile hayvan türleri arasındaki olası çapraz enfeksiyon durumlarının araştırılması hedeflenmiştir. Burdur yöresinde; daha önce Tanyüksel ve ark (2002) tarafından PCR ile sığır *Babesia* türleri ve Bilgiç ve ark (2017a) tarafından da PCR ve RLB ile koyun ve keçilerde *Theileria* ve *Babesia* türlerinin araştırıldığı moleküler düzeyde çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışma ise hem sığır hem de koyun ve keçilerdeki *Theileria* ve *Babesia* türlerini ve hayvan türleri arasındaki olası çapraz enfeksiyonları araştırmayı hedeflenmiş ve bu amaçla Burdur ili dâhilinde mümkün olduğunca fazla odaktan çok sayıda örnek toplanmaya çalışılmış ve incelenmiştir. Bu çalışma ile Burdur’da sığır, koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin yaygınlıklarıyla ve olası çapraz enfeksiyon durumlarıyla ilgili elde edilecek olan geniş kapsamlı ve güncel verilerin yorumlanarak, bu parazitlere karşı korunma ve kontrol stratejilerinde yeni yaklaşımların ortaya konmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışmada Kullanılan Kan Örneklerinin Toplandığı Bölgelerin Seçimi

Saha çalışmaları; 1 Eylül - 1 Kasım 2015 tarihleri arasında Burdur'un Ağlasun, Bucak, Gölhisar, Merkez ve Yeşilova ilçelerinde yürütülmüştür. Çalışma kapsamında *Theileria* ve *Babesia* türleri açısından incelenecek olan koyun, keçi ve sığırlara ait kan örnekleri toplanırken aşağıda verilen üç önemli kriter göz önünde tutulmuş ve bu kriterler çerçevesinde örnek toplanmasına dikkat edilmiştir.

1. Kan örnekleri Burdur İli'ni coğrafi olarak temsil edebileceği düşünülen, şehrin merkezi ile birlikte doğu, batı, kuzey ve güneyinde yer alan toplam beş ilçeden toplanmıştır.

2. Ortak ve/veya komşu mera, çayır gibi beslenme alanlarını kullanan, dolayısıyla yaşam ve beslenme alanı bakımından aynı kenelere maruz kalabilme potansiyeline sahip sığır, koyun ve keçi sürülerinin bulunması ve kan örneklerinin bu sürüler içerisinde toplanmasına dikkat edilmiştir.

3 Güncel olarak veya geçmişte theileriosis, babesiosis ve/veya kene enfestasyonu problemleri yaşamış hayvanların olduğu bölgeler seçilmeye çalışılmıştır.

Çalışma süresince toplam 330 koyun, 300 keçi ve 334 sığırdan kan örnekleri toplanmış olup, örneklerin ilçelere ve türlere göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Toplanan kan örneklerinin ilçelere ve hayvan türlerine göre dağılımı

İlçeler						
Hayvan Türü	Ağlasun	Bucak	Gölhisar	Merkez	Yeşilova	Toplam
<b>Koyun</b>	70	50	50	85	75	<b>330</b>
<b>Keçi</b>	85	50	50	55	60	<b>300</b>
<b>Sığır</b>	100	51	71	52	60	<b>334</b>
<b>Toplam</b>	<b>255</b>	<b>151</b>	<b>171</b>	<b>192</b>	<b>195</b>	<b>964</b>

Hayvanlara ait kan örneklerinin toplandığı ilçelerin harita üzerindeki konumları Şekil 3'de verilmiştir.



Şekil 3. Kan örneklerinin toplandığı ilçeleri gösteren Burdur haritası

### 3.2. Kan Örneklerinin Toplanması

Kan örneği toplanan hayvanlara ait gerekli bilgiler (yaş, cinsiyet, tür, hayvan sahibi, lokalizasyonu gibi) kaydedilmiştir. Hayvanlardan kan örnekleri, steril iğne ucu kullanılarak *Vena jugularis* veya bazı hayvanlarda *Vena coccygea*'dan (varsa hastalık belirtisi gösteren, yoksa en az bir hastalık sezonu geçirmiş hayvanlardan rastgele olacak şekilde) EDTA'lı (disodium ethylenediamine tetra-acetate) tüplere beş ml miktarlarında alınmış, EDTA'lı tüplere toplanan örneklerin herbiri laboratuarda steril 1,5 ml'lik ependorf tüpler içerisine konularak genomik DNA (gDNA) ekstraksiyonu için -20°C'de saklanmıştır.



### 3.3. Kan Örneklerinden gDNA İzolasyonu

Toplanan kan örneklerinden gDNA izolasyonu; ticari DNA izolasyon kiti (Promega Wizard Genomic DNA Extraction Kit) kullanılarak, kit protokolüne uygun şekilde yapılmıştır. Bu amaçla daha önceden izolasyon için 1,5 ml'lik steril ependorf içerisine ayrılmış olan 300 µl kan, -20°C derin dondurucudan çıkarılmış ve oda sıcaklığında çözünmesi sağlanarak, vorteks yardımıyla homojenize edilmiştir. Çözünen kanın üzerine 900 µl Cell Lysis Solution eklenmiş, birkaç kere altüst edilerek ve hafifçe vurularak homojenize edilmiştir. Oda sıcaklığında 10 dk inkübe edilmiş (inkübasyon süresi boyunca 2-3 kez altüst edilmiştir) ve inkübasyon sonrası 14000 rpm'de 1,5 dk santrifüj edilmiştir. Dipteki çöküntü oynatılmadan üstteki sıvı kısım (süpernatant) pipet yardımıyla uzaklaştırılmış, üzerine yeniden 900 µl Cell Lysis Solution eklenerek homojenize edilmiş ve oda sıcaklığında 10 dk inkübasyona (inkübasyon süresi boyunca yine 2-3 kez altüst edilerek) bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası yeniden 14000 rpm'de 1,5 dk santrifüj edilerek dipteki çöküntü oynatılmadan, üstteki süpernatant uzaklaştırılmıştır. Sonrasında tüp vortekslenerek (15-20 sn) dipteki çöküntünün süspanse olması sağlanmıştır. Üzerine 300 µl Nuclei Lysis Solution eklenerek 5-6 kez pipetlenmiş ve homojenize edilmiştir. Sonrasında ısı bloğu veya su banyosunda 37°C sıcaklıkta bir saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası tüp içerisine 100 µl Protein Precipitation Solution eklenerek 15-20 sn yüksek ayarda vortekslenmiş ve devamında 14000 rpm'de oda sıcaklığında 3,5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası tüpün dibinde koyu kahverekli bir çökelti (protein peleti) şekillenmiştir. Dipteki pelet yerinden oynatılmadan üstteki sıvı kısım (süpernatant) pipet yardımıyla alınmış ve içerisinde 300 µl isopropanol bulunan başka bir 1,5 ml'lik ependorf içerisine transfer edilmiş, ependorf, 8-10 defa alt üst edilerek süpernatant ile isopropanolün karışması (içerisinde gözle görülür bir kitle halinde iplikçik şeklinde DNA şekillenene kadar) sağlanmıştır. Oda sıcaklığında 14000 rpm'de 1,5 dk santrifüj edilerek, DNA'nın küçük beyaz bir pelet şeklinde tüpün dibine yapışması sağlanmıştır. Üstte kalan süpernatant (isopropanol) uzaklaştırılarak, pelet üzerine 300 µl 70 % etanol eklenmiş, birkaç kez hafifçe altüst edilerek etanol ile yıkanması sağlanmıştır. Yeniden 14000 rpm'de 1,5 dk santrifüj edilerek, dipteki pelet oynatılmadan üstteki etanol dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Tüp temiz bir kurutma kâğıdı üzerine yan şekilde bırakılmış ve oda sıcaklığında kapağı açık şekilde 10-15 dk bekletilerek içerisinde kalmış olan etanolün tamamen uçması sağlanmıştır. Sonrasında tüp içerisine 100 µl DNA Rehydration Solution eklenmiş ve ısı bloğu üzerinde 65°C'de bir saat inkübe edilerek DNA'nın rehidre olması sağlanmıştır. İnkübasyon sırasında tüpe periyodik olarak 10 dk'da

bir, birkaç kez hafifçe vurularak DNA'nın rehidre olmasına yardımcı olunmuştur. İnkübasyon sonrası kısa bir santrifüj ile kapakta toplanan sıvı tüpün dibine toplanmış ve +4°C'de bir gece bekletilerek daha iyi bir redihasyon sağlanmıştır. PCR ve RLB yöntemleri boyunca kullanılacak olan DNA'lar +4°C'de bekletilmiş, sonrasında uzun süreli muhafaza için -20°C'ye kaldırılmıştır.

### 3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu amacıyla *Theileria/Babesia* soylarına ait 18S SSU rRNA geninin V4 değişken bölgesi içinde 460-540 bp'lık parçayı amplifiye eden genel primerleri RLB-F2 (5'- GAC ACA GGG AGG TAG TGA CAA G -3'), RLB-R2 (5' biotin- CTA AGA ATT TCA CCT CTG ACA GT -3') kullanılmıştır (Gubbels ve ark, 1999). Primerler Thermo electron, GmbH, Germany firması tarafından sentezlenerek, liyofilize olarak teslim edilmiştir. Daha sonra steril bi-distile su (DNase-RNase free) ile primerlerin konsantrasyonları 100 pmol/µl olacak şekilde sulandırılmıştır. Her PCR reaksiyon karışımı hazırlanırken primerlerin tekrarlı dondurup çözdüremelerden etkilenmemeleri için, primerler önce vortekslenip kısa bir santrifüj sonrasında 10'ar pmol/µl konsantrasyonda olacak şekilde sulandırılarak steril eppendorf tüplere bölünmüştür. Bu stok (100 pmol/µl) ve sulandırılmış (10 pmol/µl) primerler kullanım aşamasına kadar -20°C'de saklanmıştır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu karışımı, steril (DNase-RNase free) eppendorf tüpler (Axygen, USA) içerisinde; 13,55 µl steril bi-distile su (DNase-RNase free), 2,5 µl 10xBufferB1 (Tris-HCL, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 1,5 µl 25mM-MgCl<sub>2</sub>, 0,25 µl dNTP karışımı (her biri 100 mM olan dATP, dCTP, dGTP, dTTP'den oluşan karışım), 2,5 µl ileri yönlü primer (RLB-F2) (10pmol/µl) ve 2,5 µl geri yönlü primer (RLB-R2) (10pmol/µl), 0,2 µl HOT FIREpol DNA polymerase enzimi (5 U/µl) ve 2 µl hedef DNA olmak üzere toplam 25 µl son hacimde olacak şekilde hazırlanmıştır.

Tüm PCR aşamaları (stok primer solüsyonlarının sulandırılması, dNTP'nin hazırlanması ve PCR reaksiyon karışımının hazırlanması) kontaminasyonu önlemek amacıyla UV ışıkla sterilize edilen laminar kabin içerisinde, yalnızca PCR için kullanılan sterilize pipetör, sterilize ve filtreli pipet ucu ve sterilize eppendorflar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



**Resim 9.** PCR işleminde kullanılan thermal cycler'lar (PCR cihazları)

Polimeraz Zincir Reaksiyonları 'Techne TC-512' ve 'VERITI 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems)' marka ve modeldeki otomatik ısı siklus cihazlarında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlarda kullanılan termal profil Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2.** *Theileria/Babesia* Genusu için Polimeraz Zincir Reaksiyonu Isı Döngüsü

PCR aşamaları	Ön Denatürasyon	Denatürasyon-Primer Bağlanması- Uzama	Son Uzama	Kaynak
<b>Döngü sayısı, Sıcaklık ve Süreler</b>	1x [94C 10dk]	2x [ 94C 20sn-67C 30sn-72C 30sn] 2x [ 94C 20sn-65C 30sn-72C 30sn] 2x [ 94C 20sn-63C 30sn-72C 30sn] 2x [ 94C 20sn-61C 30sn-72C 30sn] 2x [ 94C 20sn-59C 30sn-72C 30sn] 2x [ 94C 20sn-57C 30sn-72C 30sn] 40x [ 94C 20sn-57C 30sn-72C 30sn]	1x [72C 10dk]	Bekker ve ark, 2002; Bilgiç ve ark, 2017a

Amplifikasyon sonunda elde edilen 25 µl hacimdeki PCR ürünlerinin beşer µl'si agaroz jel elektroforezis aşamasında kullanılmış, kalan 20'şer µl'si RLB hibridizasyon tekniğinde kullanılmak üzere + 4C'de muhafaza edilmiştir.

### **3.5. PCR ürünlerinin jel elektroforez yöntemi ile moleküler ağırlıklarına göre ayrılması ve ultraviyole (UV) ışık altında görüntülenmesi**

Polimeraz Zincir Reaksiyonu sonucu elde edilen ürünlerin görülür hale gelmesi ve böylece pozitifliklerinin belirlenmesi amacıyla % 1,5'lük Agaroz jelden yararlanılmıştır. Agaroz jel, 1x TAE (Tris-asetik asit-EDTA) buffer kullanılarak hazırlanmıştır. Bu amaçla 25 µl son hacimdeki PCR ürünlerinin her birinden beşer µl alınarak bir damla yükleme boyası (6x loading dye) ile steril parafilm üzerinde karıştırılmış ve agaroz jel içerisinde oluşturulan ilgili kuyucuklara yüklenmiştir. Örneklerin moleküler ağırlıklarının tespit edilebilmesi için her sıranın başına, ortasına ve sonuna da üçer µl hacimde moleküler ağırlık standardı (molecular weight marker) (abm 100bp Plus Opti-DNA Marker) yüklenmiştir. Ortalama bir saatlik bir süre boyunca 90 voltluk elektroforeze tabii tutulan ürünler moleküler ağırlıklarına göre ayrılmıştır. Takiben jel ultraviyole ışık altında görüntülenmiş ve örneklerin pozitiflikleri belirlenmiştir.

### **3.6. Reverse Line Blot Hibridizasyon Yöntemi (RLB)**

#### **3.6.1. Türe özgü oligonükleotid problemlerin Biodin-C membrana bağlanması (Membranın hazırlanması)**

Reverse Line Blot Hibridizasyon yöntemi, Gubbels ve ark (1999)'nın tarif ettiği şekilde uygulanmıştır. RLB için Biodin-C membran ve N-terminal N-triflorasetamidoheksil-siyanoetil, N,N-diisopropil fosforamid TFA-C6 amino linker ile muamele edilmiş spesifik oligonükleotidler (problar) kullanılmıştır. İlk olarak; miniblottera uygun boyutlarda (15 x 15 cm) kesilmiş olan bir Biodin-C membran (Pall Biosupport), % 16'luk EDAC (1-ethyl3-(3-dimethyloamino-propyl) carbodidide) (Sigma) ile oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiş (hafif ayarda çalkalanarak) ve böylece aktive olması sağlanmıştır. Sonra distile su ile yıkanarak miniblotter içerisine yerleştirilmiş ve pipetör yardımıyla kalan fazla sıvı aspire edilmiştir. Tablo 3'de gösterilen türe özgü oligonükleotid problemler; 10-3000 pmol/150 µl arasındaki konsantrasyonlarda olacak şekilde 500 mM NaHCO<sub>3</sub> (pH 8,4) ile sulandırılmış ve hazırlanan bu oligonükleotid problemler, içerisinde membran bulunan miniblotların ilgili

kuyucuklarına yüklenerek oda sıcaklığında bir dk inkübe edilmiş, oligonükleotidlerin N terminal uçlarında yer alan amino bağlayıcılar aracılığıyla membrana kovalent olarak bağlanmaları sağlanmıştır. İlk ve son kuyucuğa 2x SSPE ile 1/100 oranında sulandırılmış mürekkep yüklenmiştir. İnkübasyon sonrası tüm kuyucuklar yüklenme sırasına göre aspire edilmiştir. Miniblotterdan çıkarılan membran 90° yan çevrilerek sağ alt köşesinden küçük bir parça kesilmiş, böylece bundan sonraki kullanımlarda yönünün bilinmesi için kolaylık sağlanmıştır. Sonrasında membran 100 ml 100 mM NaOH içerisinde oda sıcaklığında sekiz dk hafif ayarda çalkalanarak inkübe edilmiş ve inaktive olması sağlanmıştır. Membran; hibridizasyon şişesi içerisinde alınarak şişe içerisinde, önceden 60°C'de bekletilerek ısıtılmış 100 ml 2xSSPE (20x SSPE: 360 mM NaCl, 20 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 2 mM EDTA, pH 7,4)/% 0,1 SDS dökülmüş ve hibridizasyon fırını içerisinde 60°C'de 5 dk ve sonra plastik kap içerisinde oda sıcaklığında hafif ayardaki çalkalayıcıda 20 mM EDTA ile 15 dk yıkanmıştır. Yıkamalar sonrası membranın üzerine yeniden bir miktar (membranın yüzeyini kaplayacak şekilde) taze 20 mM EDTA eklenerek kullanım aşamasına kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.



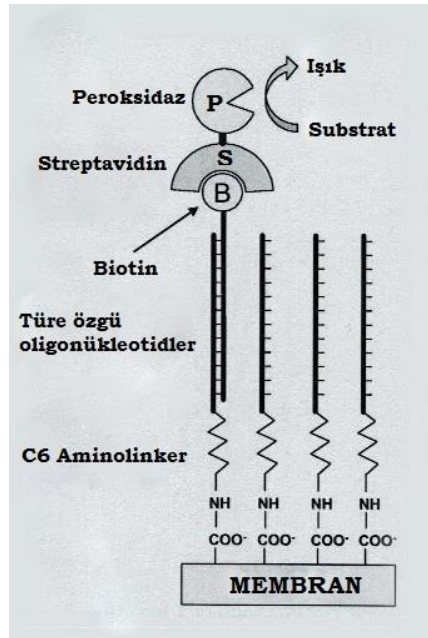
**Resim 10.** RLB yönteminde kullanılan miniblotter

**Tablo 3.** RLB’de kullanılan problar, nükleotid dizilimleri, özgülükleri ve membranda kullanılan konsantrasyonları

Prob isimleri	Oligonükleotid prob dizilimleri	Özgülük	Konsantrasyonları (pmol)	Kaynak
<i>T/B catch all</i>	TAATGGTTAATAGGARCRGTTG	Tüm <i>Theileria/Babesia</i> türlerine özgü	10	Gubbels ve ark, 1999
<i>Theileria all</i>	TGATGGGAATTTAAACCYCTTCCA	Tüm <i>Theileria</i> türlerine özgü	70	Schnittger ve ark, 2004
<i>T. annulata</i>	CCTCTGGGGTCTGTGCA	<i>T. annulata</i> ’ya özgü	100	Georges ve ark, 2001
<i>T. buffeli</i>	GGCTTATTTCCGWTTGATTTT *W: A veya T	<i>T. buffeli/orientalis</i> ’e özgü	300	Gubbels ve ark, 1999
<i>T. ovis</i>	TTGCTTTTGCTCCTTTACGAGTCTTTGC	<i>T. ovis</i> ’e özgü	750	Schnittger ve ark, 2004
<i>T. lesto II</i>	ATTGCTTGTGTCCCTCCG	<i>T. lestoquardi</i> ’ye özgü	300	Schnittger ve ark, 2004
<i>T. luwenshuni</i>	TCGGATGATACTTGTATTATC	<i>T. luwenshuni</i> ’ye özgü	250	Schnittger ve ark, 2004
<i>T. uilenbergi</i>	TGCATTTTCCGAGTGTTACT	<i>T. uilenbergi</i> ’ye özgü	200	Schnittger ve ark, 2004
<i>T. sp. OT1</i>	ATCTTCTTTTTGATGAGTTGGTGT	<i>T. sp. OT1</i> ’e özgü	400	Nagore ve ark, 2004
<i>T. sp. OT3</i>	ATTTTCTTTTTATATGAGTTTT	<i>T. sp. OT3</i> ’e özgü	400	Nagore ve ark, 2004
<i>T. sp. MK</i>	CATTGTTTCTTCTCATGTC	<i>T. sp. MK</i> ’ya özgü	250	Altay ve ark, 2007c
<i>T. separata</i>	GGTCGTGGTTTTCTCGT	<i>T. separata</i> ’ya özgü	250	Schnittger ve ark, 2004
<i>Babesia all</i>	CCTKGGTAATGGTTAATAGGAA	Tüm <i>Babesia</i> türlerine özgü	300	Schnittger ve ark, 2004
<i>B. divergens</i>	GTAAATATTGACTAATGTCGAG	<i>B. divergens</i> ’e özgü	400	Gubbels ve ark, 1999
<i>B. bovis</i>	CAGGTTTCGCCTGTATAATTGAG	<i>B. bovis</i> ’e özgü	500	Georges ve ark, 2001
<i>B. bigemina</i>	CGTTTTTCCCTTTTGTTGG	<i>B. bigemina</i> ’ya özgü	400	Gubbels ve ark, 1999
<i>B. major</i>	TCCGACTTTGGTTGGTGT	<i>B. major</i> ’a özgü	500	Georges ve ark, 2001
<i>B. ovis</i>	TGCGCGCGCCTTTGCGTACT	<i>B. ovis</i> ’e özgü	900	Nagore ve ark, 2004; Schnittger ve ark, 2004
<i>Bm3</i>	TTCAAGCAGACTTTTGTCTTG	<i>B. motasi</i> , <i>B. sp. Çin</i> , <i>B. crassa</i> spp. türlerine özgü	750	Schnittger ve ark, 2004
<i>Bm2-2</i>	GAATGATGCCGACTTAAACCCT	<i>B. motasi</i> , <i>B. sp. Çin</i> türlerine özgü	750	Schnittger ve ark, 2004
<i>Bm1</i>	GCTTGCTTTTTGTTACTTTTG	<i>B. motasi</i> ’ye özgü	750	Schnittger ve ark, 2004
<i>BcG</i>	GTTGGCTTATCTTTTTACTTT	<i>B. crassa</i> grubuna özgü	750	Schnittger ve ark, 2004
<i>BcT</i>	TCTGATCGAGTTGGCTTA	<i>B. crassa</i> Türkiye’ye özgü	750	Schnittger ve ark, 2004
<i>BcI</i>	TTATGGCCCCGTTGGCTTAT	<i>B. crassa</i> İran’a özgü	750	Schnittger ve ark, 2004
<i>B. motasi</i>	ATTGGAGTATTGCGCTTGCTTTTT	<i>B. motasi</i> ’ye özgü	600	Nagore ve ark, 2004

### 3.6.2. PCR ürünlerinin türe özgü oligonükleotid problara bağlanması

İlk olarak, daha önce yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan ve buzdolabında +4°C'de plastik kap içerisinde (üzeri 20 mM EDTA ile kaplı) muhafaza edilmekte olan membran dolaptan çıkarılarak, kap içerisindeki EDTA dökülmüştür. Sonra membran üzerine bir miktar (membran yüzeyini kaplayacak kadar) 2x SSPE/% 0,1 SDS eklenmiş ve oda sıcaklığında hafif ayardaki çalkalayıcı içerisinde beş dk yıkanmıştır. Membran miniblotter içerisine, kesilmiş köşesi sağ alt tarafa gelecek şekilde yerleştirilmiş ve kalan fazla sıvı aspire edilerek uzaklaştırılmıştır. Her örnekten 20 µl PCR ürünü, son hacim 150 µl olacak şekilde 2x SSPE/0,1 % SDS ile sulandırılmış ve çift zincir yapısındaki DNA'nın denatürasyonu amacıyla ısı bloğunda 100°C'de 10 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası hızlıca buz üzerine alınan örnekler, kısa bir santrifüj sonrası yeniden buz üzerine konulmuştur. Sulandırılmış ve denatüre edilmiş PCR ürünleri, hava baloncuğu kalmayacak şekilde miniblotterin ilgili kuyucuklarına sırayla (150 µl son hacimde) yüklenmiş ve PCR ile çoğaltılan ürünlerin özgül oldukları ilgili oligonükleotid problara bağlanmaları amacıyla 42°C sıcaklıktaki etüvde bir saat inkübe edilmiştir.



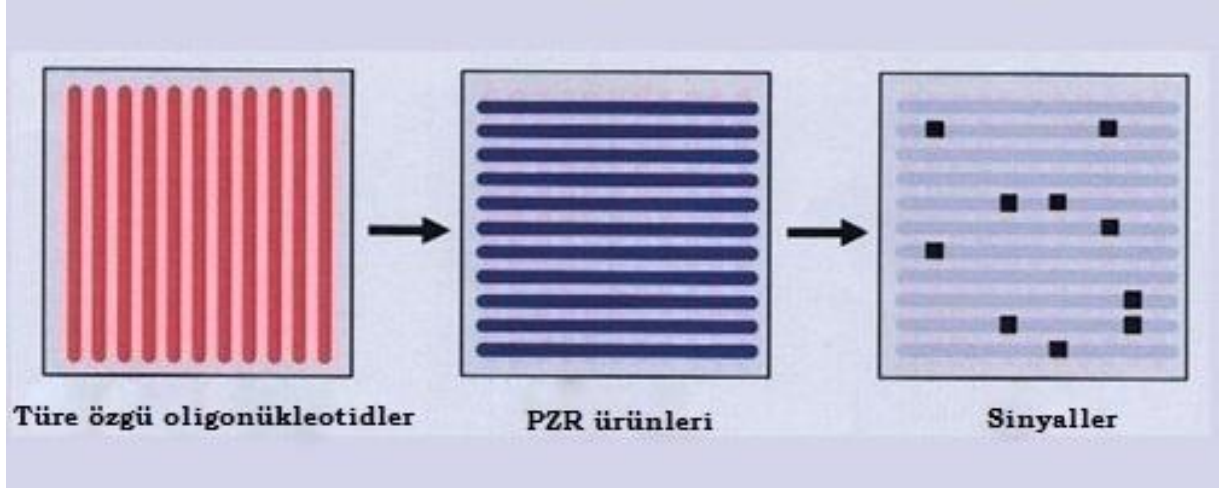
**Şekil 4.** RLB tekniğinde hibridizasyon prensibi; türe özgü oligonükleotidlerin C6 aminolinker ile membrana, biotinle işaretli PCR ürünlerinin türe özgü oligonükleotidlere, peroksidaz ile işaretli streptavidinin biotine bağlanması sonucunda ECL ilavesi ile oluşan ışımının elde edilmesi (Biotech, 2004).

İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki sıvılar aspire edilmiştir. Membran miniblotterden çıkarılıp hibridizasyon şişesi içerisine alınarak, önceden ısıtılmış 100 ml 2x SSPE/0,5 % SDS ile hibridizasyon fırını içerisinde membrana hibridize olmamış ürünlerin ortamdan uzaklaştırılması amacıyla 52°C sıcaklıkta iki kere 10'ar dakika yıkanmıştır. Bu yıkamalardan sonra, membrandaki problara hibridize olmuş PCR ürünlerinin belirlenmesi amacıyla; içerisinde oluşan PCR ürünlerinin 5' ucunda bulunan biotine bağlanma özelliği gösteren peroksidaz ile işaretli streptavidin konjugat (Boehringer, Mannheim, Almanya) bulunan 42°C'ye ısıtılmış 10 ml 2x SSPE/% 0,5 SDS (10 ml 2xSSPE/% 0,5 SDS + 2,5 µl peroksidaz ile işaretli streptavidin konjugat) bulunan solüsyon ile 30 dakika boyunca 42°C'de inkube edilmiştir. Bu konjugasyon aşamasından sonra şişe içerisindeki sıvı dökülerek, membran 100 ml 2xSSPE/% 0,5 SDS ile 42°C'de iki kere daha 10'ar dakika yıkanmıştır. Sonrasında membran şişeden plastik kap içerisine aktararak, oda sıcaklığında 100 ml 2x SSPE ile iki kez beşer dakika hafif ayarda çalkalayıcı yardımıyla yıkanmıştır. Yıkamaların sonunda membran başka bir plastik kap içerisine alınarak 10 ml ECL (electrochemiluminescence) karışımı (Invitrogen, Novex ECL, USA) (5 ml ECL1 + 5 ml ECL2) ile oda sıcaklığında 1-2 dakika muamele edilmiştir. Bu işlem sonrasında membran iki adet temiz asetat kâğıdı arasına düzgünce yerleştirilerek (hava baloncuğu kalmayacak şekilde) görüntüleme cihazına (UVP, EC3 Chemi HR 410 Imaging System, Cambridge, UK) konulmuş ve membranda oluşan ışımının kaydedilmesi için 20-30 dk boyunca fotoğraflanmıştır. Elde edilen fotoğraf, üzerindeki sinyaller incelenmek üzere kaydedilmiş ve membran üzerindeki PCR ürünlerinin uzaklaştırılarak membranın yeniden kullanılabilmesi amacıyla yıkama aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada membran hibridizasyon şişesi içerisine alınarak önceden ısıtılmış 1x SDS ile 80°C'de iki kez 30'ar dakika boyunca hibridizasyon şişesi içerisinde hibridizasyon fırınında yıkanmıştır. İkinci yıkama sonrası membran hibridizasyon şişesinden plastik kap içerisine aktararak oda sıcaklığında 100 ml 20 mM EDTA ile hafif ayarda çalkalayıcı yardımıyla 15 dk muamele edilmiştir. Son olarak EDTA dökülerek membran üzerine yeniden bir miktar (membranın üzerini kaplayacak kadar) 20 mM EDTA dökülerek sonraki kullanımlara kadar muhafaza etmek amacıyla içerisinde membran bulunan plastik kap +4°C'ye kaldırılmıştır.

Membranın hazırlanması aşamasında türe özgü oligonükleotid problemlerin membrana hibridize edilmesi (bağlanması), sonrasında Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile amplifiye edilmiş ve denatüre edilerek tek zincirli hale getirilmiş örneklere ait DNA'ların türe özgü oligonükleotidlere bağlanması, konjugasyon aşamasında peroksidaz ile işaretli streptavidinin PCR'da kullanılan ters yönlü (reverse) primer üzerinde bulunan biotine bağlanması ve



sonrasında ECL ile muamele neticesinde açığa çıkan ışımının elde edilmesi aşamaları Şekil 5’de şematize edilmiştir.



**Şekil 5.** Biodin-C membrana, türe özgü oligonükleotidler ile PCR ürünlerinin uygulanma şekli ve hibridizasyon gerçekleştiğinde oluşan pozitif sinyaller (Biotech, 2004)

### 3.7. PCR ve RLB yöntemlerinde kullanılan solüsyon ve kimyasallar

Toplanan kan örneklerinden; DNA izolasyonu, polimeraz zincir reaksiyonu, PCR ürünlerinin görüntülenmesi, reverse line blot hibridizasyon metodu ve membranın görüntülenmesine kadar laboratuarda gerçekleştirilen tüm aşamalarda kullanılan çeşitli solüsyon ve kimyasal maddeler aşağıda verilmiştir.

1. DNA İzolasyonu için;
  - DNA ekstraksiyon kiti (Promega Wizard Genomic DNA Purification Kit)
  - % 70’lik ethanol (Sigma-Aldrich)
  - İzopropanol (2-Propanol) (Sigma-Aldrich)
  
2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu için;
  - Nükleaz ari su (Nuclease Free Water -NFW) (Sigma-Aldrich)
  - 10x Buffer B1 (Solis Biodyne)
  - 25 mM-MgCl<sub>2</sub> (Solis Biodyne)

- dNTP Set (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) (Solis Biodyne)
- İleri ve geri yönlü primerler (RLB-F ve RLB-R) (Metabion International AG)
- DNA polimeraz enzimi (HOT FIREpol) (Solis Biodyne)

### 3. Agaroz jel elektroforez için;

- ddH<sub>2</sub>O (Deiyonize su)
- 1 x TAE (Tris-asetik asit-EDTA) buffer (Sigma-Aldrich)
- Agaroz jel (Sigma-Aldrich)
- Moleküler Ağırlık Cetveli (molecular weight marker) (abm 100bp Plus Opti-DNA Marker)
- DNA görüntüleme boyası (abm Safeview Classic)

### 4. Türe özgü oligonükleotid problemlerin Biodin-C membrana bağlanması (membranın hazırlanması) için;

- ddH<sub>2</sub>O (deiyonize su)
- 500 mM NaHCO<sub>3</sub> (Sodyum bikarbonat) (pH: 8,4) (Sigma-Aldrich)
- % 16'lık EDAC (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>) (1-Ethyl-3-(3-Dimethylaminopropyl)carbodiimide) (Sigma-Aldrich)
- 100 mM NaOH (Sodyum hidroksit) (Merck-Schuchardt)
- 2 x SSPE (ph: 7,4) (NaCl Sodyum klorid + NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Sodyum fosfat + EDTA)
- 2 x SSPE / % 0,1 SDS (Sodyum dodesil sülfat)
- Türe özgü oligonükleotid problemler

### 5. PCR ürünlerinin türe özgü oligonükleotid problemlere bağlanması için;

- ddH<sub>2</sub>O
- 20 x SSPE (SSPE: NaCl Sodyum klorid + NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Sodyum fosfat + EDTA) (Sigma-Aldrich)
- 2 x SSPE
- 10 x SDS (SDS: Sodyum dodesil sülfat) (Merck Schuchardt)
- 1 x SDS
- 0,5 M EDTA (pH: 8,0) (EDTA: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> Ethylenediaminetetraacetic acid) (Sigma-Aldrich)
- 20 mM EDTA
- 20 x SSPE / % 0,5 SDS
- 20 x SSPE / % 0,1 SDS

- EZ-ECL (ECL 1 + ECL 2) (Invitrogen Novex ECL HRP Chemiluminescent Substrate Reagent Kit)
- Streptavidin-POD (Peroksidaz ile işaretli streptavidin) (Sigma-Aldrich)

### **3.8. PCR ve RLB işlemlerinde kullanılan cihaz ve sarf malzemeler**

1. PCR cihazı-1 (Applied Biosystems VERITI 96 well Thermal Cycler)
2. PCR cihazı-2 (Techne TC 512 96 well Thermal Cycler)
3. Jel elektroforez tankı (Thermo Electron Corporation EC340 Maxicell ve EC330 Midicell Primo Electrophoretic Gel System)
4. Otomatik pipetör (1-10 µl, 10-100 µl ve 100-1000 µl) (Thermo Electron Corporation)
5. Görüntüleme Cihazı (UVP EC3 Chemi HR 410 Imaging System)
6. Mini Blotter (Immunetics Miniblotter 45 MN45 Electrophoresis BLOT)
7. Biodin-C membran (Pall Gelman Laboratory Biodyne C Membrane 0,45 µm)
8. Etüv (Memmert)
9. Hibridizasyon fırını (Techne Hybridiser HB-1D)
10. Hibridizasyon şişesi (Techne)
11. Isı bloğu (Techne Dri-block DB-3D)
12. Vorteks cihazı (Dragon Lab MX-S)
13. Santrifüj cihazı (Hettich Zentrifugen Mikro 200R)
14. Su banyosu (Memmert)
15. Otoklav cihazı (Hirayama – Hiclave HV-50L)
16. PCR kabini (Biosan UV-cabinet for PCR operations UVC/T-AR)
17. pH metre (Thermo Scientific Orion Star A211 ph Meter)
18. Isıtmalı manyetik karıştırıcı (Yellow line MSH basic)
19. Elektroforez cihazı (Güç kaynağı) (Thermo Scientific EC 1000-90 ve Biorad Power Pac Basic)
20. Sallayıcı (Shaker) (Labnet Rocker 25)
21. Buzdolabı (+4°C) (Bosch, Vestel)
22. Derin Dondurucu (-20°C) (Beko, Siemens)
23. Steril 1,5 ml'lik ependorf tüpler (Greiner Bio-one)
24. Steril PCR tüpleri (Greiner Bio-one)
25. Steril pipet uçları fitreli ve filtresiz (1000 µl, 200 µl ve 10 µl) (Greiner Bio-one)

26. Asetat kağıdı
27. Ependorfları yerleştirmeye uygun buz kalıbı
28. Membranı muhafaza etmek için boyutlarına uygun ve kapaklı plastik kap

### **3.9. İstatistiksel Analiz**

Bu çalışma sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri ‘IBM SPSS Statistics 20’ programı yardımıyla Pearson ki-kare testi kullanılarak yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. PCR Bulguları

İncelenen örneklerin PCR analizleri sonucu tespit edilen pozitif örnek sayı ve yüzdeleri ilçelere ve hayvan türlerine göre Tablo 4’de verilmiştir. Bazı örneklerde PCR analizleri sonucu belirlenen ampikonların agaroz jel üzerinde görünümü Resim 11’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.** İlçe ve hayvan türlerine göre PCR sonucu pozitif bulunan hayvan sayı ve yüzdeleri

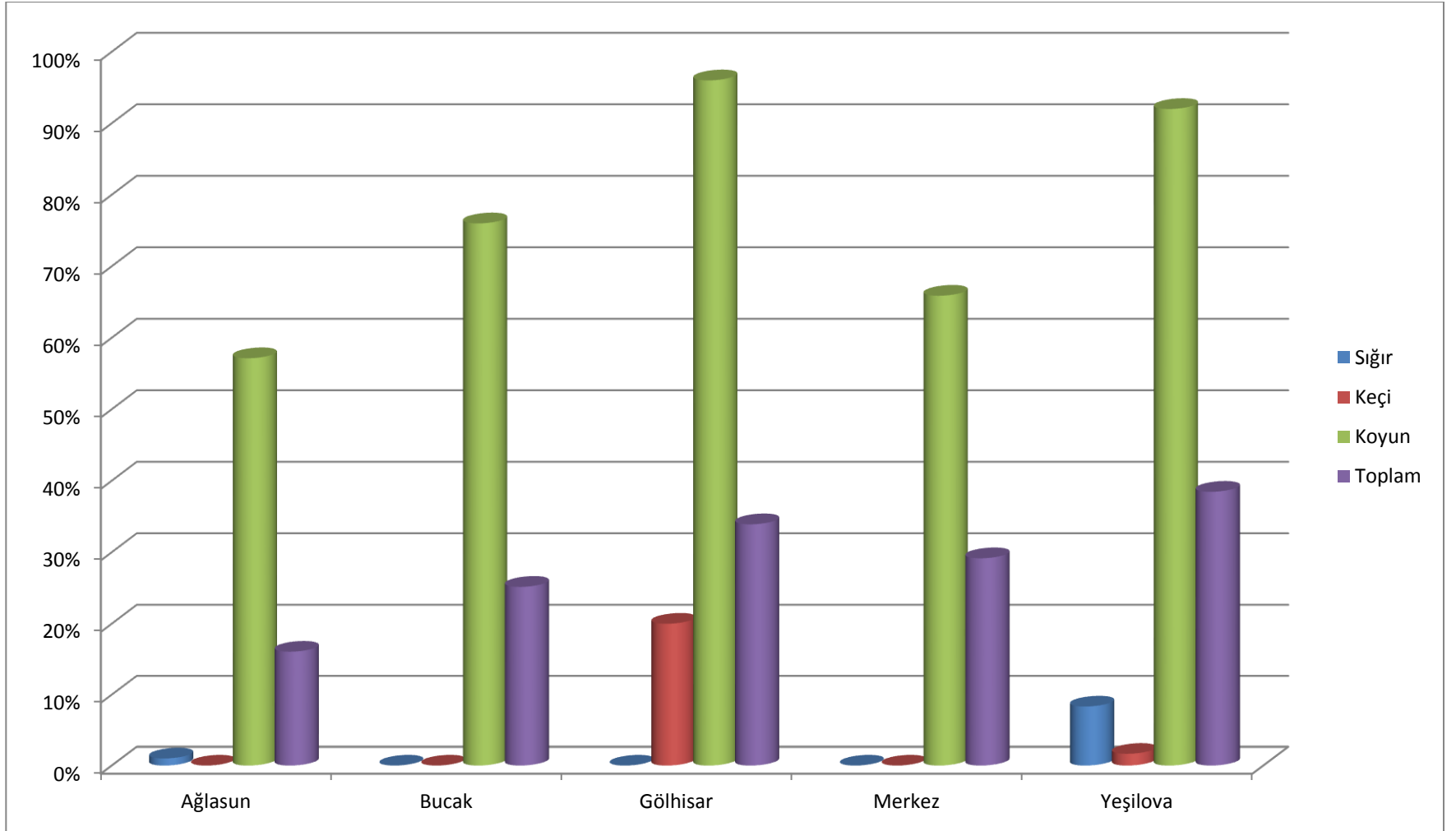
İlçeler	Koyun		Keçi		Sığır		Toplam	
	n (hayvan sayısı)	Pozitif hayvan sayısı ve yüzdesi (%)	n (hayvan sayısı)	Pozitif hayvan sayısı ve yüzdesi (%)	n (hayvan sayısı)	Pozitif hayvan sayısı ve yüzdesi (%)	n (hayvan sayısı)	Pozitif hayvan sayısı ve yüzdesi (%)
<b>Ağlasun</b>	70	40 (% 57,14)	85	0 (% 0)	100	1 (% 1)	<b>255</b>	<b>41</b> (% 16,07)
<b>Bucak</b>	50	38 (% 76)	50	0 (% 0)	51	0 (% 0)	<b>151</b>	<b>38</b> (% 25,16)
<b>Göhlisar</b>	50	48 (% 96)	50	10 (% 20)	71	0 (% 0)	<b>171</b>	<b>58</b> (% 33,91)
<b>Merkez</b>	85	56 (% 65,88)	55	0 (% 0)	52	0 (% 0)	<b>192</b>	<b>56</b> (% 29,16)
<b>Yeşilova</b>	75	69 (% 92)	60	1 (% 1,66)	60	5 (% 8,33)	<b>195</b>	<b>75</b> (% 38,46)
<b>Toplam</b>	<b>330</b>	<b>251</b> (% 76,06)	<b>300</b>	<b>11</b> (% 3,66)	<b>334</b>	<b>6</b> (% 1,79)	<b>964</b>	<b>268</b> (% 27,8)

İlçelere göre *Theileria/Babesia* genus PCR sonuçları değerlendirildiğinde; Ağlasun’dan toplanan koyun kanlarının % 57,14 ve sığır kanlarının % 1’inde pozitifliğe rastlanırken, incelenen 85 adet keçi kan örneğinin tamamı negatif bulunmuştur. Bucak’ta incelenen koyunların % 76’sı pozitif bulunurken, 50 adet keçi ve 51 adet sığıra ait kan örneğinin tamamının PCR’da negatif sonuç verdiği görülmüştür. Göhlisar’da toplanan koyun

kanlarında % 96 gibi yüksek bir oranda pozitiflik saptanırken, keçilerin % 20'si pozitif bulunmuş ve incelenen 71 sığırdaki pozitifliğe rastlanmamıştır. Merkez ilçede, incelenen 85 koyunun 56'sı (% 65,88) pozitif bulunurken, 55 keçi ve 52 sığırın hiç birinde pozitiflik görülmemiştir. Yeşilova'da ise koyunlarda % 92, keçilerde % 1,66 ve sığırlarda ise % 8,33 oranlarında pozitiflik tespit edilmiştir.

Tüm ilçeler toplu olarak değerlendirildiğinde ise; incelenen 330 koyunun 251'i (% 76,06), 300 keçinin 11'i (% 3,66) ve 334 sığırın altısı (% 1,79) *Theileria/Babesia* soy özgü PCR analizleri sonucunda pozitif bulunmuş, tüm hayvanlardaki pozitiflik oranı ise % 27,8 olarak saptanmıştır.

Koyun, keçi ve sığır dâhil tüm hayvanların toplu sonuçları bir arada değerlendirildiğinde ise; Ağlasun'da % 16,07, Bucak'da % 25,16, Gölhisar'da % 33,91, Merkez'de % 29,16 ve Yeşilova'da ise % 38,46 oranlarında pozitifliğe rastlanmıştır. Dolayısıyla *Theileria/Babesia* soy özgü primerleri ile taranan toplam 964 adet koyun, keçi ve sığıra ait kan örneklerinin 268'i (% 27,8) pozitif bulunmuştur.



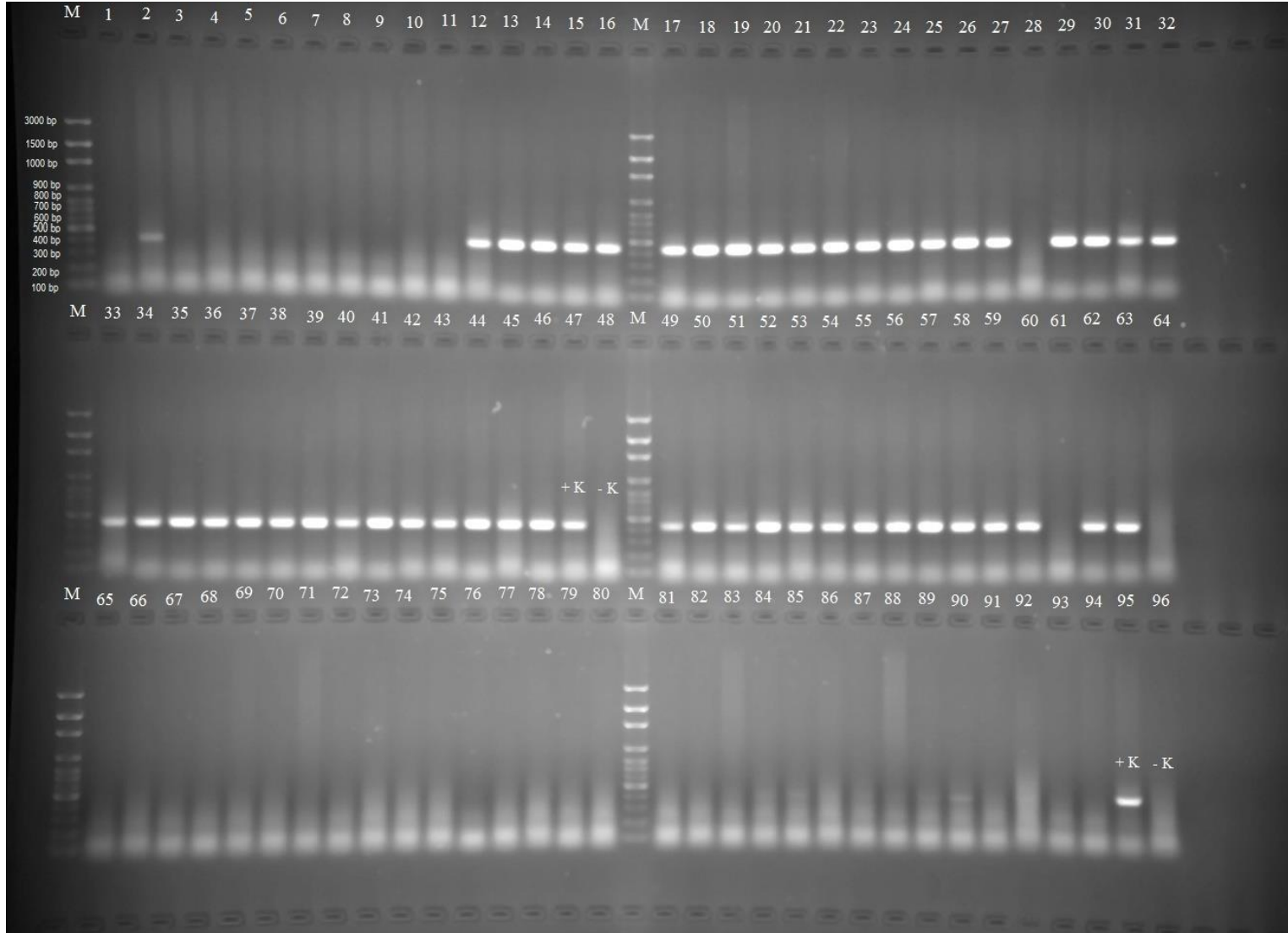
Şekil 6. İlçe ve hayvan türlerine göre PCR sonucu pozitif bulunan hayvan yüzdeleri

Şekil 6’da görüldüğü üzere *Theileria/Babesia* soy özgü PCR sonucu pozitif bulunan koyunlardaki en yüksek oran Gölhisar’da (% 96) görülürken, bunu Yeşilova (% 92), Bucak (% 76), Merkez (% 65,88) ve Ağlasun (% 57,14) izlemiştir. Koyunlarda PCR ile tespit edilen pozitif hayvan yüzdelerinin ilçeler arasındaki bu farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Keçilerde en yüksek pozitiflik oranı Gölhisar’da (% 20) görülmüş, Yeşilova ilçesinde yalnızca bir keçide (% 1,66) pozitiflik saptanırken, Ağlasun, Bucak ve Merkez ilçelerinden toplanan keçi kan örneklerinde pozitifliğe rastlanılmamıştır. Sığırlar için pozitiflik oranları incelendiği zaman; Yeşilova’nın % 8,33 ile en yüksek yüzdeye sahip olduğu ve bunu % 1 ile Ağlasun’un izlediği, Bucak, Gölhisar ve Merkez ilçelerinden toplanan tüm sığır kan örneklerinin ise negatif olduğu tespit edilmiştir. Keçilerde Ağlasun, Bucak ve Merkez ilçede, sığırlarda da Bucak, Gölhisar ve Merkez ilçelerde PCR ile pozitiflik saptanamadığı için bu hayvan türlerinin ilçeler arasındaki PCR ile pozitiflik yüzdelerine istatistiksel analiz yapmanın anlamlı olmayacağı düşünülmüştür.

İncelenen tüm hayvanların ilçelere göre toplam pozitiflik oranlarında ise Yeşilova % 38,46 ile en yüksek yüzdeye sahip iken bunu sırasıyla; Gölhisar (% 33,91), Merkez (% 29,16), Bucak (% 25,16) ve Ağlasun (% 16,07) izlemiş, ilçeler arasındaki bu farklılık da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Hayvan türlerine göre en yüksek pozitiflik yüzdesinin % 76,06 (251/330) ile koyunlarda görüldüğü, bunu % 3,66 (11/300) ile keçiler ve % 1,79 (6/334) ile de sığırların izlediği belirlenmiş ve hayvan türleri arasındaki farklılığın da istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ).



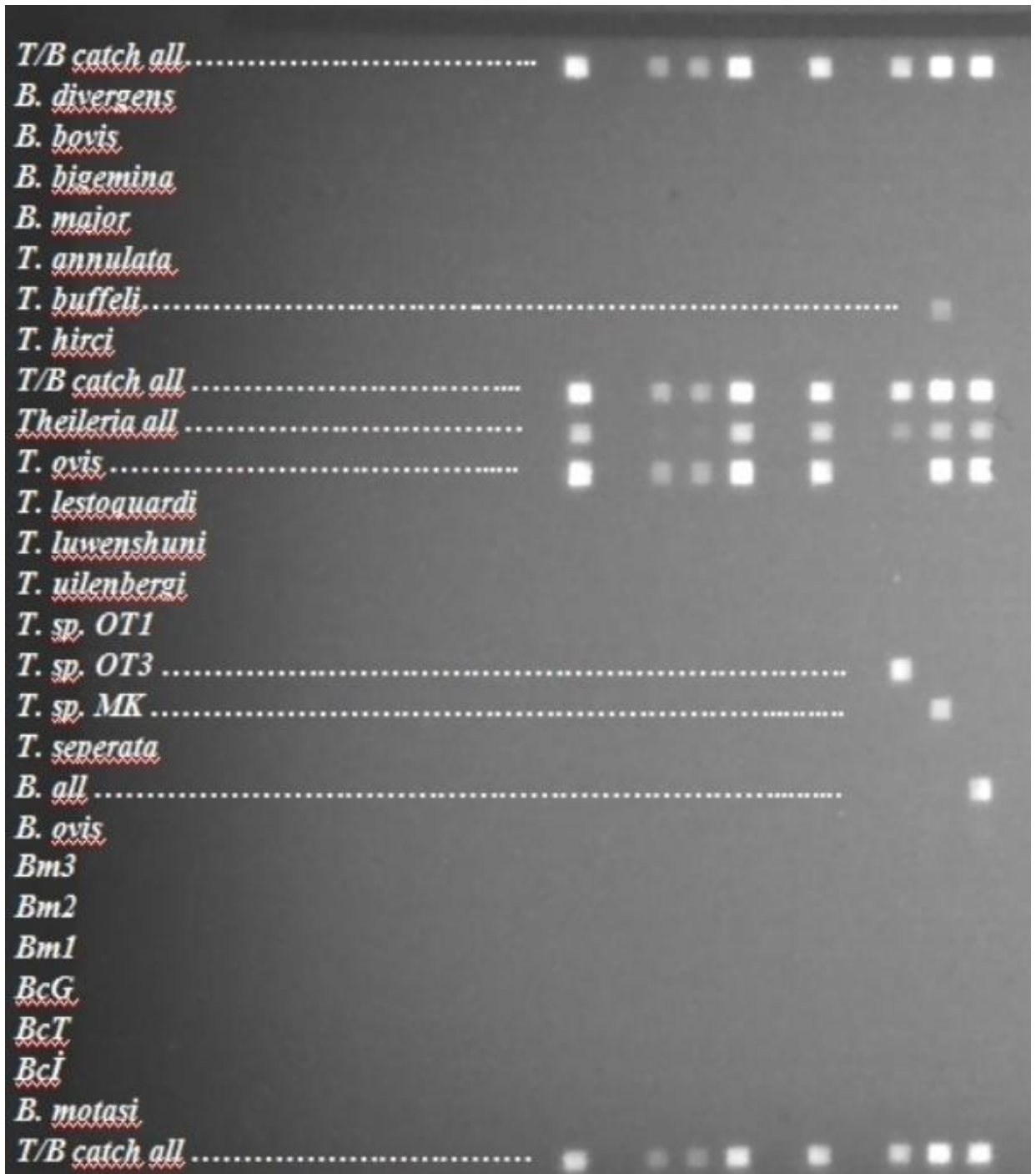


**Resim 11.** *Theileria/Babesia* genus PCR sonucu pozitif ve negatif bulunan bazı örneklerin yer aldığı örnek bir agaroz jel fotoğrafı (M: 100 bp DNA marker; +K: pozitif kontrol; -K: negatif kontrol)

## 4.2. RLB Bulguları

### 4.2.1. *Theileria* veya *Babesia* Türlerinden En Az Biriyle Enfekte (Pozitif) Bulunan Hayvan Sayı ve Yüzdeleri

İncelenen hayvanlar içerisinde *Theileria* veya *Babesia* türlerinden en az biri ile enfekte olan, bir diğer ifadeyle pozitif olan hayvan sayıları ilçelere ve hayvan türlerine göre Tablo 5’de verilmiştir. Buna göre; Ağlasun’da 70 koyunun 43’ü (% 61,4) pozitif, 27’si (% 38,6) negatif, 85 keçinin yedisi (% 8,2) pozitif, 78’i (% 91,8) negatif, 100 sığırın ikisi (% 2) pozitif, 98’i (% 98) negatif bulunmuştur. Bucak’ta 50 koyunun 38’i (% 76) pozitif, 12’si (% 24) negatif, 50 keçinin üçü (% 6) pozitif, 47’si (% 94) negatif ve 51 sığırın tamamı (% 100) negatif bulunmuştur. Gölhisar’da 50 koyunun 48’i (% 96) pozitif, ikisi (% 4) negatif, 50 keçinin 29’u (% 58) pozitif, 21’i (% 42) negatif, 71 sığırın tamamı (% 100) negatif sonuç vermiştir. Merkez’de 85 koyunun 65’i (% 76,5) pozitif, 20’si (% 23,5) negatif, 55 keçinin (% 100) ve 52 sığırın (% 100) tamamı negatif bulunmuştur. Yeşilova’da ise 75 koyunun 72’si (% 96) pozitif, üçü (% 4) negatif, 60 keçinin 10’u (% 16,7) pozitif, 50’si (% 83,3) negatif, 60 sığırın 22’si (% 36,7) pozitif, 38’i (% 63,3) negatif olarak tespit edilmiştir.



Resim 12. RLB’de kullanılan problemlerin yerleşimi

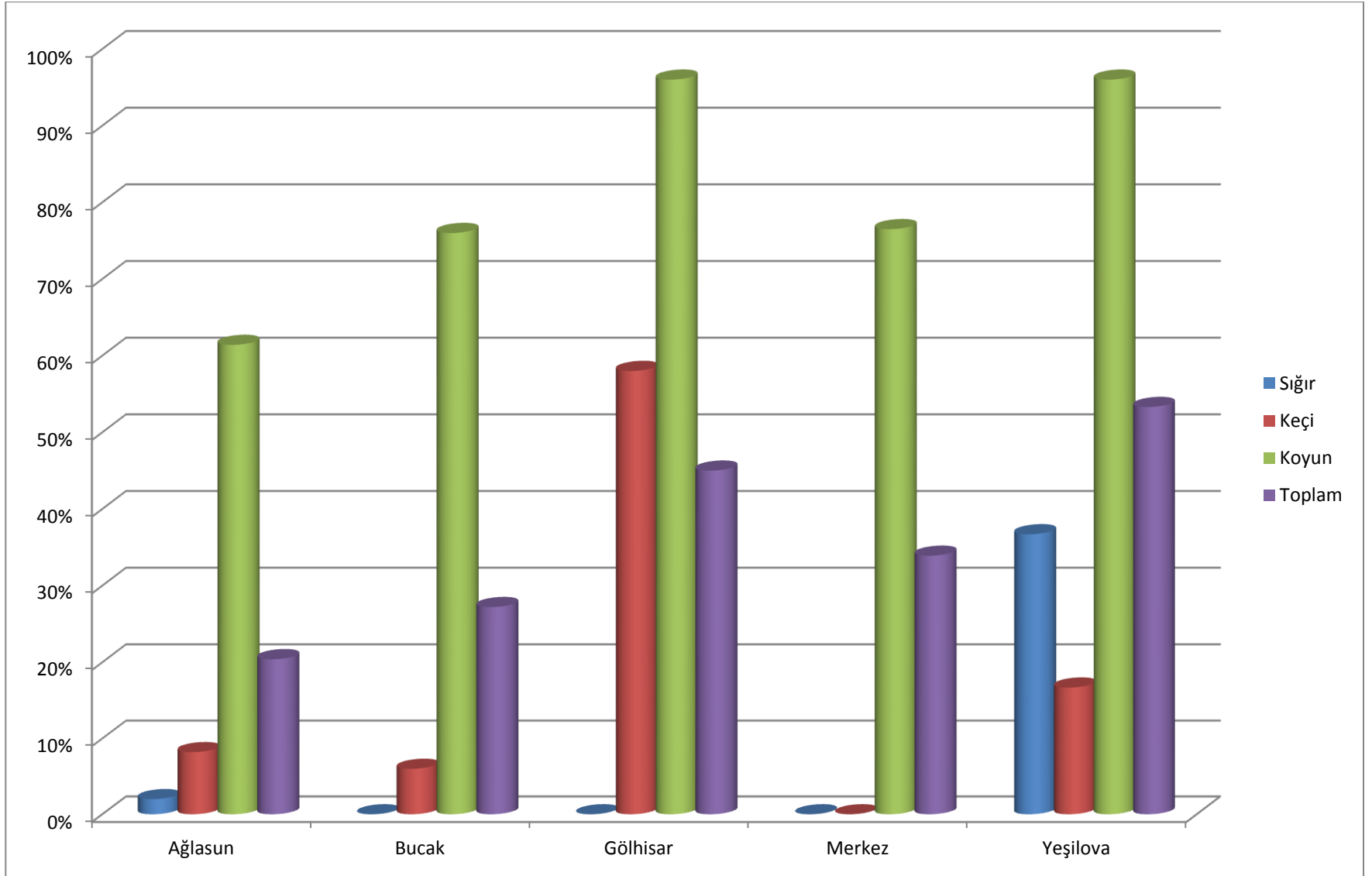
**Tablo 5.** İlçe ve hayvan türlerine göre RLB sonucu *Theileria* veya *Babesia* türlerinden en az biriyle enfekte (pozitif) hayvan sayıları ve yüzdeleri

İlçeler	Koyun		Keçi		Sığır		Toplam	
	n (hayvan sayısı)	Pozitif hayvan sayısı ve yüzdesi (%)	n (hayvan sayısı)	Pozitif hayvan sayısı ve yüzdesi (%)	n (hayvan sayısı)	Pozitif hayvan sayısı ve yüzdesi (%)	n (hayvan sayısı)	Pozitif hayvan sayısı ve yüzdesi (%)
<b>Ağlasun</b>	70	43 (% 61,4)	85	7 (% 8,2)	100	2 (% 2)	<b>255</b>	<b>52</b> (% 20,4)
<b>Bucak</b>	50	38 (% 76)	50	3 (% 6)	51	0 (% 0)	<b>151</b>	<b>41</b> (% 27,2)
<b>Göhlisar</b>	50	48 (% 96)	50	29 (% 58)	71	0 (% 0)	<b>171</b>	<b>77</b> (% 45)
<b>Merkez</b>	85	65 (% 76,5)	55	0 (% 0)	52	0 (% 0)	<b>192</b>	<b>65</b> (% 33,9)
<b>Yeşilova</b>	75	72 (% 96)	60	10 (% 16,7)	60	22 (% 36,7)	<b>195</b>	<b>104</b> (% 53,3)
<b>Toplam</b>	<b>330</b>	<b>266</b> (% 80,6)	<b>300</b>	<b>49</b> (% 16,3)	<b>334</b>	<b>24</b> (% 7,2)	<b>964</b>	<b>339</b> (% 35,2)

Hayvan türleri bazında değerlendirildiğinde, beş ilçeden toplanan 330 koyun kanının 266'sı (% 80,6) pozitif, 64'ü (% 19,4) negatif; 300 keçi kanının 49'u (% 16,3) pozitif, 251'i (% 83,7) negatif; 334 sığır kanının 24'ü (% 7,2) pozitif, 310'u (% 92,8) negatif bulunmuştur.

Toplam sonuçlar ilçelere göre değerlendirildiğinde ise; Ağlasun'dan toplanan 255 kanın 52'si (% 20,4) pozitif, 203'ü (% 79,6) negatif; Bucak'tan toplanan 151 kanın 41'i (% 27,2) pozitif, 110'u (% 72,8) negatif; Göhlisar'dan toplanan 171 kanın 77'si (% 45) pozitif, 94'ü (% 55) negatif bulunmuştur. Yine Merkez'den toplanan 192 kanın 65'i (% 33,9) pozitif, 127'si (% 66,1) negatif; Yeşilova'dan toplanan 195 kanın 104'ü (% 53,3) pozitif, 91'i (% 46,7) negatif sonuç vermiştir.

Burdur'da beş ilçeden koyun, keçi ve sığırlardan elde edilen toplam 964 kan örneğinin RLB sonucunda 339'unun (% 35,2) pozitif, 625'inin (% 64,8) negatif olduğu belirlenmiştir.



Şekil 7. İlçe ve hayvan türlerine göre RLB sonucu en az bir türle enfekte (pozitif) bulunan hayvan yüzdeleri

Şekil 7’de görüldüğü üzere RLB sonucu *Theileria* veya *Babesia* türlerinden en az biriyle enfekte olduğu tespit edilen, bir diğer ifadeyle pozitif bulunan koyunlardaki en yüksek oranı (% 96) Gölhisar ve Yeşilova’nın paylaştığı görülmektedir. Bunları % 76,5 ile Merkez ilçe ve onu da çok küçük bir farkla (% 76) Bucak izlemiştir. Koyunlardaki, RLB’de pozitifliğin en düşük yüzdeyle seyrettiği ilçe olan Ağlasun’da ise % 61,4 oranında pozitiflik saptanmıştır. Keçilerde ve sığırlardaki pozitiflik durumunun koyunlara göre çok daha düşük yüzdelerde seyrettiği görülmektedir. Keçilerdeki RLB sonucunda en yüksek yüzdeye sahip ilçe % 58 ile Gölhisar olurken, Yeşilova’nın % 16,7’lik bir pozitiflik oranı ile ikinci sırayı aldığı görülmektedir. Ağlasun’da RLB ile incelenen keçilerin % 8,2’si, Bucak’ta ise % 6’sı pozitif bulunurken Merkez ilçeden toplanan keçi kan örneklerinin tamamı (0/55) negatif bulunmuştur. Sığır örneklerinin RLB sonucu pozitiflik yüzdelerinde Yeşilova % 36,7 ile en yüksek yüzdeye sahip ilçe olmuştur. Ağlasun’dan toplanan sığır örneklerinin pozitifliği % 2 olarak tespit edilirken; Bucak, Gölhisar ve Merkez ilçelerinden toplanan sığır kan örneklerinin hiç birinde RLB ile *Theileria* veya *Babesia* türlerine rastlanmamıştır. Koyunlarda ( $p<0,05$ ), keçilerde ( $p<0,05$ ) ve sığırlarda ( $p<0,05$ ) RLB ile saptanan pozitiflik yüzdelerinin ilçeler arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

RLB sonucu pozitiflik saptanan hayvan sayılarını türlere göre sıraladığımız zaman; beş ilçeden toplanan tüm koyun kanlarının % 80,6’sı pozitif bulunurken, bunu % 16,3 pozitiflik oranı ile keçi örnekleri ve sonrasında ise % 7,2 pozitiflik oranı ile sığır örnekleri izlemiştir. Hayvan türleri arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

İlçelere göre RLB sonucu en az bir türle enfekte (pozitif) hayvan yüzdelerinde ise en yüksek yüzdeye sahip ilçe % 53,3 ile Yeşilova olmuştur. Bunu sırasıyla; % 45 ile Gölhisar, % 33,9 ile Merkez, % 27,2 ile Bucak ve % 20,4 ile Ağlasun izlemiştir. Tüm hayvan türlerine ait RLB pozitiflik yüzdelerinin ilçeler arasındaki farklılığı da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

## 4.2.2. Hayvan Türlerine Göre RLB ile Tespit Edilen *Theileria/Babesia* Enfeksiyonları

### 4.2.2.1. Koyunlarda RLB ile Tespit Edilen *Theileria/Babesia* Enfeksiyonları

Koyunlardan toplanan kan örneklerinin RLB yöntemi ile incelenmesi neticesinde *Theileria/Babesia* enfeksiyonları ile ilgili sonuçlar ve bulunan türler Tablo 6'da verilmiştir. Buna göre; Ağlasun'dan toplanan 70 koyunun 39'unda (% 55,7) *T. ovis* + *Babesia* spp., ikisinde (% 2,8) *Bm3* (*B. crassa/B. sp. China/B. motasi*,) + *BcG* (*B. crassa* Türkiye/*B. crassa* İran), birinde (% 1,4) *Babesia* spp., birinde (% 1,4) *T. ovis* + *Bm3* + *BcI* (*B. crassa* İran) tespit edilmiş ve 27'si (% 38,5) negatif bulunmuştur.

Bucak'tan toplanan 50 koyun kanının 26'sı (% 52) *T. ovis*, 12'si (% 24) *T. ovis* + *Babesia* spp. pozitif bulunurken, 12'si (% 24) de negatif bulunmuştur. Gölhisar'dan kan örneği alınan 50 koyunun 46'sı (% 92) *T. ovis* + *Babesia* spp., ikisi (% 4) *T. ovis* + *Bm3* ve ikisi (% 4) de negatif olarak tespit edilmiştir. Burdur Merkez ilçeyi temsilen toplanan 85 koyuna ait kan örneğinin 56'sı (% 65,9) *T. ovis*, dokuzu (% 10,6) *T. ovis* + *Babesia* spp. ve 20 tanesi (% 23,5) negatif bulunmuştur. Yeşilova'da ise, toplanan 75 koyun kanının 71'inin (% 94,7) *T. ovis*, birinin (% 1,3) *T. ovis* + *Bm3* + *BcI* ile enfekte iken üçünün (% 4) negatif olduğu görülmüştür.

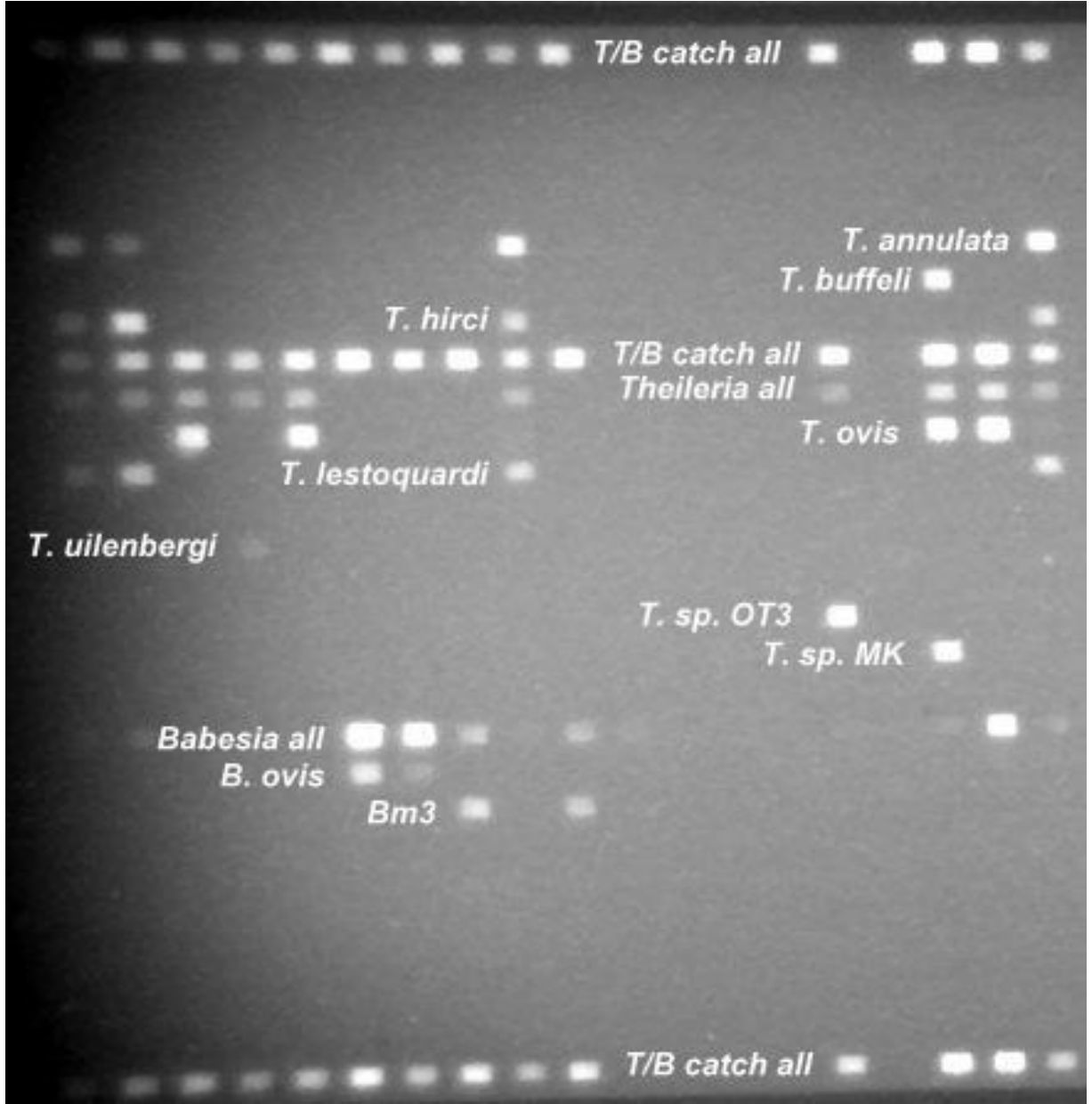
Koyunlarda tespit edilen *Theileria/Babesia* türlerinin toplamdaki durumuna bakacak olursak; 330 adet koyun kan örneğinin 153'ü (% 46,3) *T. ovis*, 106'sı (% 32,1) *T. ovis* + *Babesia* spp., ikisi (% 0,6) *Bm3* + *BcG*, ikisi (% 0,6) *T. ovis* + *Bm3*, biri (% 0,3) *Babesia* spp., biri (% 0,3) *T. ovis* + *Bm3* + *BcG*, biri (% 0,3) *T. ovis* + *Bm3* + *BcI* ve 64'ü (% 19,4) negatif olarak tespit edilmiştir. Tekli veya miks enfeksiyon olmasına bakılmaksızın *T. ovis*'in koyunlardaki yaygınlığı % 79,69 şeklinde bulunmuştur.

**Tablo 6.** Koyunlarda RLB sonucu tespit edilen *Theileria/Babesia* enfeksiyonları

İlçe	İncelenen koyun sayısı	Tespit edilen türler ve türlere göre enfeksiyon oranları (% oranı=x/n * 100)						
		<i>T. ovis</i>	<i>Babesia spp.</i>	<i>T. ovis + Babesia spp.</i>	<i>T. ovis + Bm3</i>	<i>Bm3+BcG</i>	<i>T. ovis + Bm3 + BcG</i>	<i>T. ovis + Bm3 + BcI</i>
Ağlasun	70	% 0 (0/70)	% 1,4 (1/70)	% 55,7 (39/70)	% 0 (0/70)	% 2,8 (2/70)	% 0 (0/70)	% 1,4 (1/70)
Bucak	50	% 52 (26/50)	% 0 (0/50)	% 24 (12/50)	% 0 (0/50)	% 0 (0/50)	% 0 (0/50)	% 0 (0/50)
Göhlisar	50	% 0 (0/50)	% 0 (0/50)	% 92 (46/50)	% 4 (2/50)	% 0 (0/50)	% 0 (0/50)	% 0 (0/50)
Merkez	85	% 65,9 (56/85)	% 0 (0/85)	% 10,6 (9/85)	% 0 (0/85)	% 0 (0/85)	% 0 (0/85)	% 0 (0/85)
Yeşilova	75	% 94,7 (71/75)	% 0 (0/75)	% 0 (0/75)	% 0 (0/75)	% 0 (0/75)	% 1,3 (1/75)	% 0 (0/75)
<b>Toplam</b>	<b>330</b>	<b>% 46,3 (153/330)</b>	<b>% 0,3 (1/330)</b>	<b>% 32,1 (106/330)</b>	<b>% 0,6 (2/330)</b>	<b>% 0,6 (2/330)</b>	<b>% 0,3 (1/330)</b>	<b>% 0,3 (1/330)</b>

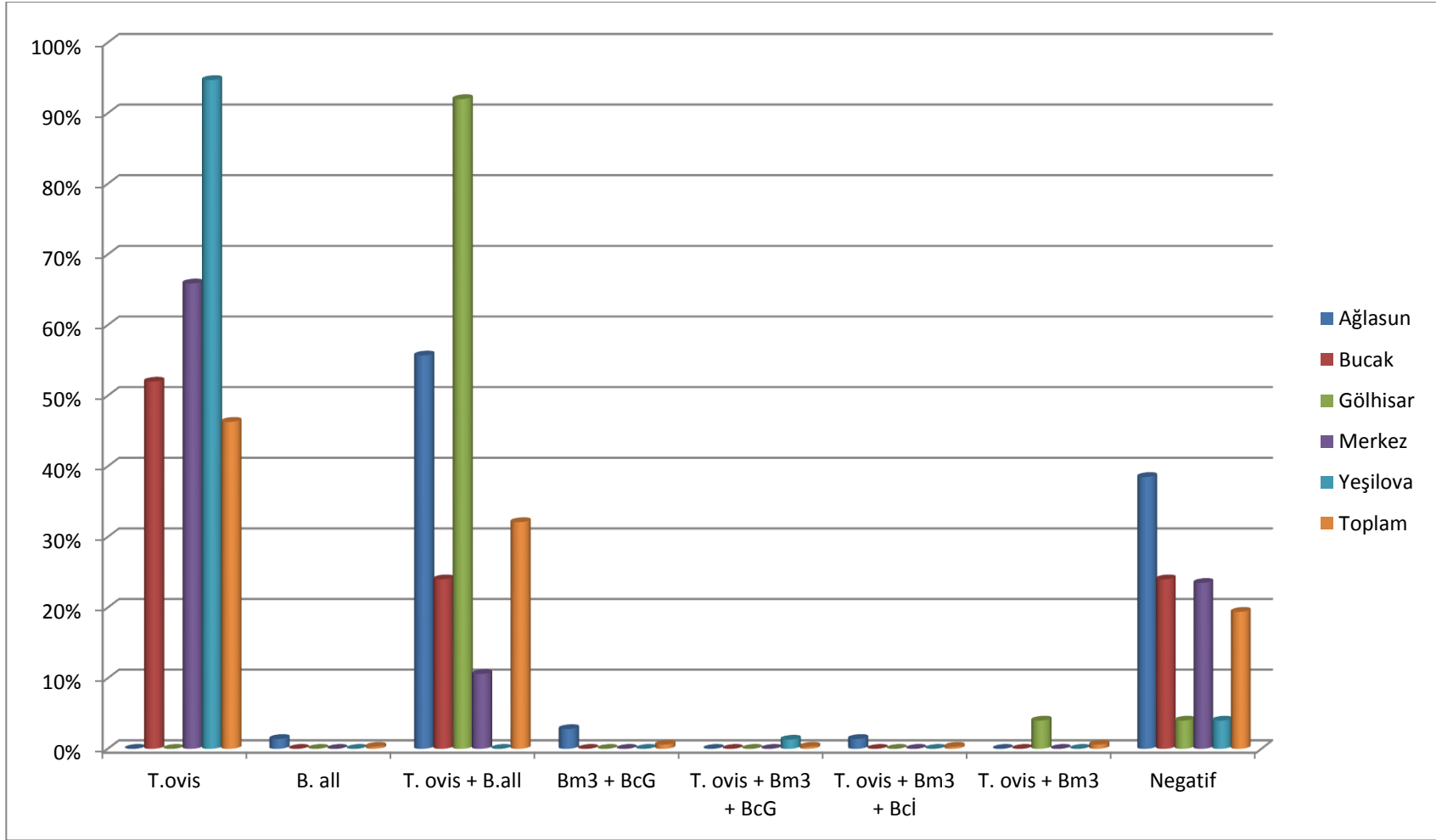
x= enfekte koyun sayısı, n= incelenen koyun sayısı





**Resim 13.** RLB’de kullanılan bazı pozitif kontroller

Tekli veya diğer etkenlerle birlikte çoklu enfeksiyonların hepsi dâhil olmak üzere koyunlarda en fazla görülen tür *T. ovis* olmuştur. Tekli veya çoklu enfeksiyona dâhil olması önemsenmeksizin, 330 koyunun 263 tanesinde (% 79,69) *T. ovis*’e rastlanmıştır. Benzer şekilde 107 koyunda (% 32,42) *Babesia* spp., altı koyunda (% 1,81) *Bm3* (*Bm3* = *B. crassa*/*Babesia* sp. China/*B. motasi*), üç koyunda (% 0,9) *BcG* (*B. crassa* Türkiye/*B. crassa* İran) ve bir koyunda da (% 0,3) *Bcİ* (*B. crassa* İran) etkenleri tespit edilmiştir.



Şekil 8. Koyunlarda RLB sonucu saptanan enfeksiyonlar ve ilçelere göre dağılımı

Koyunlarda RLB sonucuna göre; en yoğun karşılaşılan enfeksiyon % 46,3 ile *T. ovis* enfeksiyonu olmuştur. İlçe bazında ise *T. ovis* enfeksiyonu en yoğun olarak % 94,7 ile Yeşilova'da görülürken, bunu % 65,9 ile Merkez ve % 52 ile Bucak izlemiştir. Ağlasun ve Gölhisar'dan toplanan koyun kan örneklerinde ise RLB ile tekli *T. ovis* enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Buna göre; *T. ovis* yaygınlığının ilçeler arasındaki farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Tüm koyunlarda ikinci en yoğun görülen enfeksiyon ise % 32,1 ile *T. ovis + Babesia* spp. enfeksiyonu olmuştur. *T. ovis + Babesia* spp. enfeksiyonunun RLB sonucu en yoğun görüldüğü ilçe % 92 ile Gölhisar olurken, bunu % 55,7 ile Ağlasun, % 24 ile Bucak ve % 10,6 ile de Merkez izlemiş, Yeşilova'da *T. ovis + Babesia* spp. enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Koyunlarda RLB sonucu tespit edilen üçüncü en yoğun enfeksiyonun % 0,6'lık bir yüzdeyle *Bm3 + BcG* olduğu görülmektedir. Bu enfeksiyon yalnızca Ağlasun'da % 2,8 görülürken Bucak, Gölhisar, Merkez ve Yeşilova ilçelerinde ise *Bm3 + BcG* enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Koyunlarda saptanan bir diğer enfeksiyon olan *T. ovis + Bm3* de tüm koyunlar içerisinde % 0,6'lık orana sahipken, bu iki vaka da Gölhisar'da görülmüştür. *Babesia* spp. enfeksiyonu yalnızca Ağlasun'da 70 koyundan birinde (% 1,4) görülmüş ve tüm koyunlar içerisindeki oranı % 0,3 olarak bulunmuştur. Benzer şekilde *T. ovis + Bm3 + BcI* enfeksiyonu da yalnızca Ağlasun'da 70 koyundan birinde (% 1,4) görülmüş ve tüm koyunlar içerisindeki oranı % 0,3 şeklinde olmuştur. Koyunlarda RLB ile saptanan bir diğer üçlü enfeksiyon olan *T. ovis + Bm3 + BcG* de yalnızca Yeşilova'daki 75 koyundan birinde (% 1,3) tespit edilmiş ve tüm koyunlar içerisindeki yüzdesi % 0,3 gibi düşük bir oranda kalmıştır. Tüm ilçelerde örneklenen toplam koyun sayısının % 19,4'ünde ise *Theileria/Babesia* enfeksiyonlarından hiç birine rastlanmamıştır.

#### 4.2.2.2. Keçilerde RLB ile Tespit Edilen *Theileria/Babesia* Enfeksiyonları

Burdur İli'nin beş farklı ilçesinden toplanan, keçilere ait kan örneklerinin RLB yöntemi ile analizi sonucu *Theileria/Babesia* enfeksiyonları açısından elde edilen sonuçları ve bulunan türler Tablo 7'de verilmiştir. Buna göre; Ağlasun'dan toplanan 85 keçiye ait kan örneğinin beşinde (% 5,9) *Babesia* spp., birinde (% 1,2) *B. ovis*, birinde (% 1,2) *Bm3* tespit edilmiş ve 78'i (% 91,7) negatif bulunmuştur. Bucak'tan toplanan 50 keçinin kan örneğinin üçünde (% 6) *Bm3* bulunmuş ve 47'si (% 94) negatif sonuç vermiştir. Gölhisar'da 50 keçiden 25'i (% 50) *Bm3*, ikisi (% 4) *Babesia* spp., biri (% 2) *B. ovis*, biri (% 2) *Theileria/Babesia* ve 24'ü

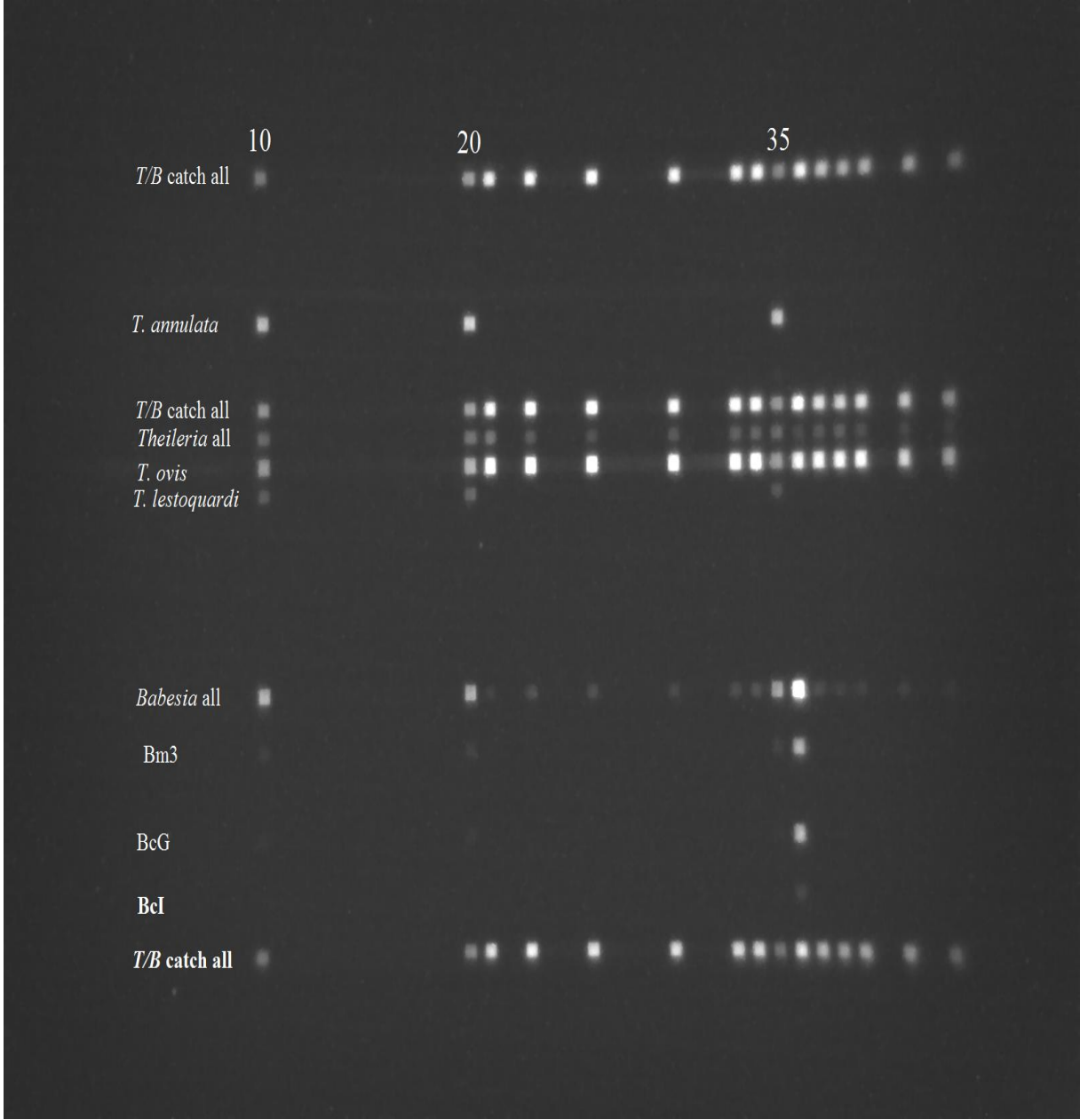
(% 42) negatif bulunmuştur. Merkez ilçeden alınan 55 keçiye ait kan örneklerinin hiç birinde *Theileria* veya *Babesia* pozitifliğine rastlanmamıştır. Yeşilova’da incelenen 60 keçiye ait kan örneğinin dördü (% 6,7) *Bm3*, üçü (% 5) *Babesia* spp., ikisi (% 3,3) *Theileria/Babesia* spp., biri (% 1,7) *T. ovis* ve 50’si de (% 83,3) negatif olarak tespit edilmiştir.

Keçilerdeki genel duruma bakıldığında ise; toplam 300 keçi kan örneğinin 33’ü (% 11) *Bm3*, 10’u (% 3,3) *Babesia* spp., üçü (% 1) *Theileria/Babesia* spp., ikisi (% 0,6) *B. ovis*, biri (% 0,3) *T. ovis* ve 206’sı da (% 62,4) negatif bulunmuştur.

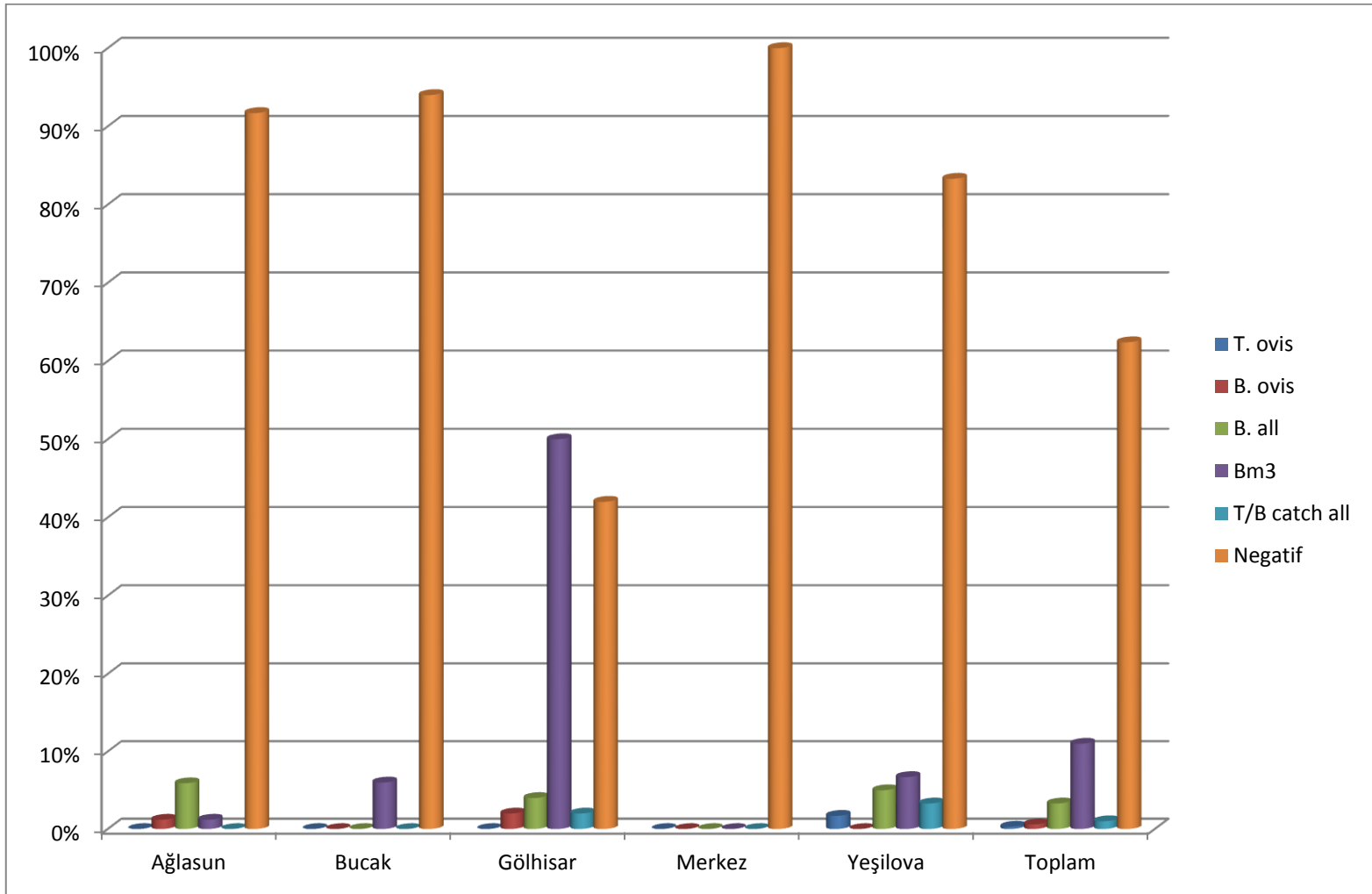
**Tablo 7.** Keçilerde RLB sonucu tespit edilen *Theileria/Babesia* enfeksiyonları

İlçe	İncelenen keçi sayısı	Tespit edilen türler ve türlere göre enfeksiyon oranları (% oranı=x/n * 100)				
		<i>T. ovis</i>	<i>B. ovis</i>	<i>Babesia</i> spp.	<i>Bm3</i>	<i>T/B catch all</i>
<b>Ağlasun</b>	85	% 0 (0/85)	% 1,2 (1/85)	% 5,9 (5/85)	% 1,2 (1/85)	% 0 (0/85)
<b>Bucak</b>	50	% 0 (0/50)	% 0 (0/50)	% 0 (0/50)	% 6 (3/50)	% 0 (0/50)
<b>Göhlisar</b>	50	% 0 (0/50)	% 2 (1/50)	% 4 (2/50)	% 50 (25/50)	% 2 (1/50)
<b>Merkez</b>	55	% 0 (0/55)	% 0 (0/55)	% 0 (0/55)	% 0 (0/55)	% 0 (0/55)
<b>Yeşilova</b>	60	% 1,7 (1/60)	% 0 (0/60)	% 5 (3/60)	% 6,7 (4/60)	% 3,3 (2/60)
<b>Toplam</b>	<b>300</b>	<b>% 0,3 (1/300)</b>	<b>% 0,6 (2/300)</b>	<b>% 3,3 (10/300)</b>	<b>% 11 (33/300)</b>	<b>% 1 (3/300)</b>

x= enfekte keçi sayısı, n= incelenen keçi sayısı



**Resim 14.** İncelenen bazı örneklere ait bir RLB membran fotoğrafı (10, 20 ve 35 numaralı örnekler pozitif kontrollerdir)



Şekil 9. Keçilerde RLB sonucu saptanan enfeksiyonlar ve ilçelere göre dağılımı

Keçilerde RLB sonucuna göre; en yoğun karşılaşılan enfeksiyon % 11 ile *Bm3* enfeksiyonu olmuştur. *Bm3* enfeksiyonu en yoğun olarak % 50 ile Gölhisar'dan toplanan keçi kan örneklerinde görülmüş, bunu % 6,7 ile Yeşilova, % 6 ile Bucak ve % 1,2 ile Ağlasun izlerken, Merkez ilçeden toplanan keçi kan örneklerinin tamamı negatif sonuç vermiştir. Keçiler arasında RLB sonucunda ikinci en yoğun görülen enfeksiyon ise % 3,3 ile *Babesia* spp. olmuştur. *Babesia* spp. pozitif bulunan keçi örneklerinin yoğunluğuna göre ilçeler kendi aralarında sıralandığı zaman ilk sırayı % 5,9 ile Ağlasun alırken, Yeşilova'da bu oran % 5 ve Gölhisar'da ise % 4 şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Bucak ve Merkez ilçelerden toplanan keçi kan örneklerinde ise *Babesia* spp. enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Keçilerde karşılaşılan üçüncü sıradaki en yoğun enfeksiyon % 1 ile *Theileria/Babesia* spp. olmuş, bu enfeksiyonun ilçeler bazındaki dağılımında ise, Yeşilova'da % 3,3 ile ilk sırayı alırken bunu % 2 ile Gölhisar izlemiştir. Ağlasun, Bucak ve Merkez ilçelerdeki keçi örneklerinde *Theileria/Babesia* spp. enfeksiyonuna rastlanmamıştır. İncelenen tüm keçi örneklerinde en az karşılaşılan iki enfeksiyon ise % 0,6 ile *B. ovis* ve % 0,3 ile *T. ovis* olmuştur. İlçeler bazında ise *B. ovis* % 2 ile Gölhisar ve % 1,2 ile de Ağlasun'da görülmüş, *T. ovis* enfeksiyonu ile ise % 1,7'lik bir oranla Yeşilova'da karşılaşılmıştır.

#### 4.2.2.3. Sığırlarda RLB ile Tespit Edilen *Theileria/Babesia* Enfeksiyonları

Sığırlardan toplanan kan örneklerinde tespit edilen *Theileria/Babesia* türlerinin ilçelere göre dağılımı Tablo 8'de verilmiştir. Buna göre; Ağlasun'u temsilen incelenen 100 sığırdan birinde (% 1) *T. annulata* ve birinde (% 1) de *Babesia* spp. bulunurken, 98 sığır (% 98) negatif bulunmuştur. Bucak (51 adet), Gölhisar (71 adet) ve Merkez'den (52 adet) elde edilen toplam 174 sığır kanının tamamı RLB ile yapılan inceleme neticesinde *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden negatif bulunmuştur. Sığır enfeksiyonları bakımından en yüksek oran Yeşilova'da belirlenmiş, türlere göre ise; % 18,3 *B. bovis*, % 16,6 *Babesia* spp., % 1,6 *T. annulata* + *Babesia* spp. tespit edilmiş ve % 63,3'ü negatif bulunmuştur.

Araştırma kapsamında incelenen sığırların tümü değerlendirildiğinde; toplanan 334 sığır kan örneğinin % 3,3'ünün *Babesia* spp., % 3,3'ünün *B. bovis*, % 0,3'ünün *T. annulata* pozitif olduğu tespit edilmiştir. Yalnızca bir sığırdan *T. annulata* + *Babesia* spp. enfeksiyonu saptanmış, 310 adet sığır kan örneği (% 92,8) *Theileria* ve *Babesia* türleri bakımından RLB taraması sonucunda negatif bulunmuştur. Tekli veya miks enfeksiyon şeklinde olmasına

bakılmaksızın *T. annulata*'nın yaygınlığı % 0,6 olarak tespit edilmiştir. İncelenen sığır kan örneklerinin hiç birinde *B. bigemina*, *B. divergens* ve *B. major* problemleri ile hibridizasyon gerçekleşmediği görülmüştür.

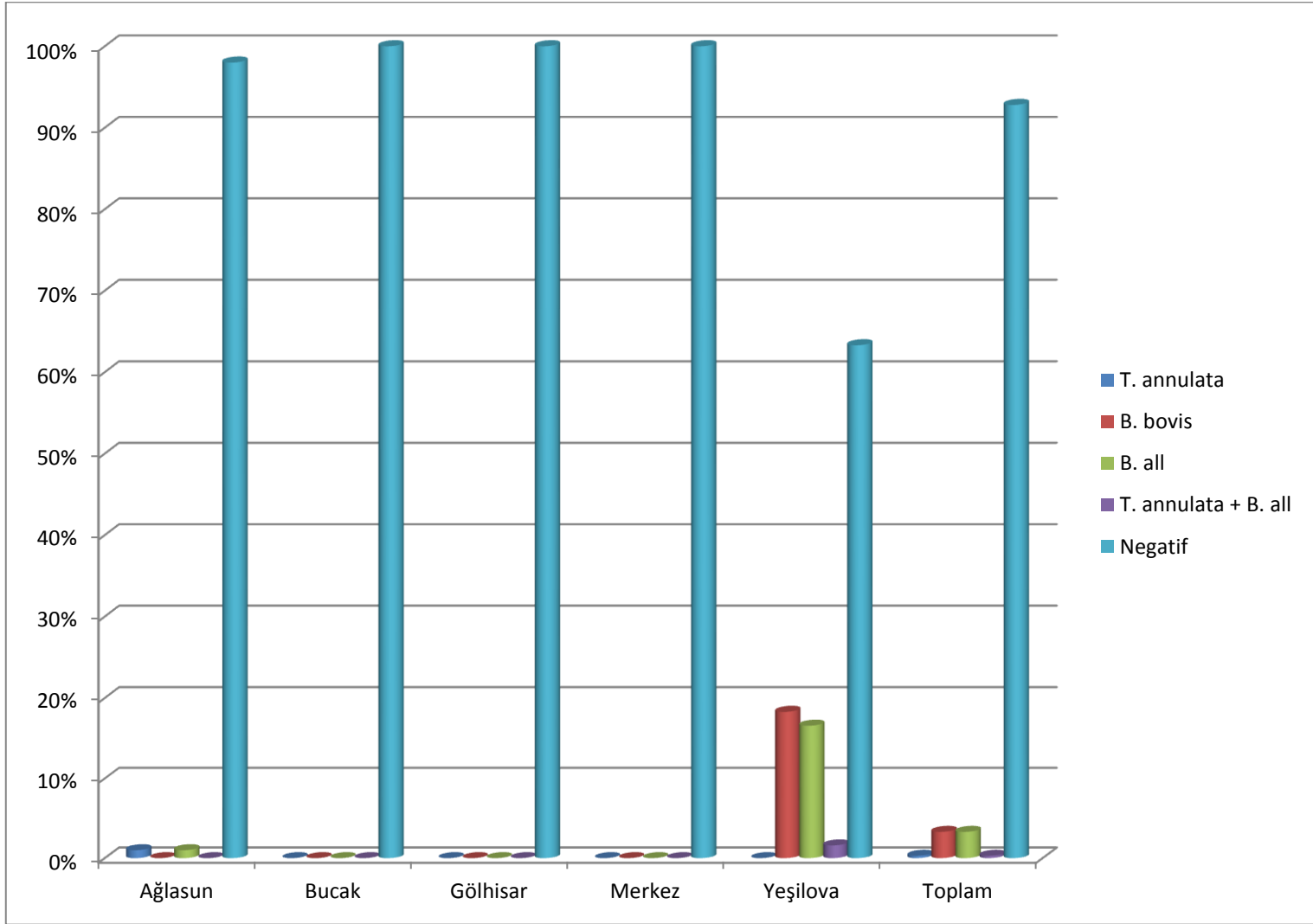
**Tablo 8.** Sığırlarda RLB sonucu tespit edilen *Theileria/Babesia* enfeksiyonları

İlçe	İncelenen sığır sayısı	Tespit edilen türler ve türlere göre enfeksiyon oranları (% oranı=x/n * 100)			
		<i>T. annulata</i>	<i>B. bovis</i>	<i>Babesia spp.</i>	<i>T. annulata + Babesia spp.</i>
Ağlasun	100	% 1 (1/100)	% 0 (0/100)	% 1 (1/100)	% 0 (0/100)
Bucak	51	% 0 (0/51)	% 0 (0/51)	% 0 (0/51)	% 0 (0/51)
Göhlisar	71	% 0 (0/71)	% 0 (0/71)	% 0 (0/71)	% 0 (0/71)
Merkez	52	% 0 (0/71)	% 0 (0/71)	% 0 (0/71)	% 0 (0/71)
Yeşilova	60	% 0 (0/71)	% 18,3 (11/60)	% 16,6 (10/60)	% 1,6 (1/60)
<b>Toplam</b>	<b>334</b>	<b>% 0,3 (1/334)</b>	<b>% 3,3 (11/334)</b>	<b>% 3,3 (11/334)</b>	<b>% 0,3 (1/334)</b>

x= enfekte sığır sayısı, n= incelenen sığır sayısı

Sığırlarda RLB sonucuna göre; en yoğun karşılaşılan iki enfeksiyon, her ikisi de % 3,3'lük yüzdeye sahip olan *B. bovis* ve *Babesia spp.* enfeksiyonları olmuştur. Bunu bir sığırdaki (% 0,3) *T. annulata* ve yine bir başka sığırdaki (% 0,3) *T. annulata + Babesia spp.* enfeksiyonları izlemiş ve incelenen sığırların % 92,8'si ise RLB analizleri sonucunda *Theileria* veya *Babesia* enfeksiyonları yönünden negatif bulunmuştur.





Şekil 10. Sığırlarda RLB sonucu saptanan enfeksiyonlar ve ilçelere göre dağılımı

### 4.2.3. Hayvan Türlerine ve İlçelere Göre RLB ile Tespit Edilen Tekli ve Çoklu Enfeksiyonların Sayı ve Yüzdeleri

Reverse line blot hibridizasyon yöntemi sayesinde üç farklı hayvan türünün çok sayıda *Theileria/Babesia* türü bakımından aynı anda incelenebilmesi mümkün olmuş ve bir ve/veya birden fazla tür ile enfekte hayvan sayılarına ulaşılmıştır. Tekli ve çoklu enfeksiyon sayı ve yüzdeleri Tablo 9'da görülmektedir. Buna göre;

Ağlasun'dan toplanan 70 koyun kanının birinde (%1,4) tekli, 41'inde (%58,5) ikili, birinde (% 1,4) üçlü enfeksiyon, 85 keçinin yedisinde (% 8,3) tekli enfeksiyon ve 100 sığırın ikisinde tekli enfeksiyon tespit edilirken keçi ve sığırlarda çoklu enfeksiyon görülmemiştir.

Bucak'dan kan örnekleri alınarak incelenen 50 koyunun 26'sında (% 52) tekli, 12'sinde (% 24) ikili, 50 keçinin ise üçünde (% 6) tekli enfeksiyon görülmüş, sığırların tamamı negatif bulunmuştur.

Göhlisar'da 50 koyunun 48'inin (% 96) iki türle, 50 keçinin 29'unun (% 58) tek türle enfekte olduğu, 71 sığırın tamamının negatif bulunduğu görülmektedir.

Merkez ilçeyi temsilen incelenen 85 koyunun 56 (% 65,9)'sı tek türle ve dokuzu (% 10,6) iki türle enfekte iken, 55 keçi ve 52 sığırın tamamının negatif olduğu tespit edilmiştir.

Yeşilova'da, incelenen 75 koyunun 71'i (% 94,7) tek türle ve biri (% 1,3) üç türle enfekte, 60 keçinin 10'u (% 16,7), 60 sığırın 21'si (% 35) tek türle ve bir sığır (% 1,6) iki türle enfekte bulunmuş, koyunlarda ikili, sığırlarda üçlü, keçilerde ise ikili ve üçlü enfeksiyona rastlanmamıştır.

Tekli ve çoklu enfeksiyon tablosuna göre; beş ilçeden örneklenen toplam 330 koyunun 154'ü (% 46,6) tek türle, 110'u (% 33,3) iki türle, ikisi (% 0,6) üç türle, 300 keçinin 49'u (% 16,3) tek türle, 334 sığırın 23'ü (% 6,9) tek türle ve biri (% 0,3) de iki türle enfekte olarak tespit edilirken, keçilerde ikili ve üçlü, sığırlarda da üçlü enfeksiyona rastlanmamıştır.

**Tablo 9.** İlçelere ve hayvan türlerine göre tekli ve çoklu enfeksiyon sayı ve yüzdeleri

<b><u>İlçeler, Hayvan Türleri ve Sayıları</u></b>	<b><u>Tekli enfeksiyon Sayı ve yüzdeleri</u></b>	<b><u>İkili enfeksiyon Sayı ve yüzdeleri</u></b>	<b><u>Üçlü enfeksiyon Sayı ve yüzdeleri</u></b>
<b>Ağlasun</b>			
Koyun (70)	1 (%1,4)	41 (%58,5)	1 (%1,4)
Keçi (85)	7 (%8,3)	-	-
Sığır (100)	2 (%2)	-	-
<b>Bucak</b>			
Koyun (50)	26 (%52)	12 (%24)	-
Keçi (50)	3 (%6)	-	-
Sığır (51)	-	-	-
<b>Göhlisar</b>			
Koyun (50)	-	48 (%96)	-
Keçi (50)	29 (%58)	-	-
Sığır (71)	-	-	-
<b>Merkez</b>			
Koyun (85)	56 (%65,9)	9 (%10,6)	-
Keçi (55)	-	-	-
Sığır (52)	-	-	-
<b>Yeşilova</b>			
Koyun (75)	71 (%94,7)	-	1 (%1,3)
Keçi (60)	10 (%16,7)	-	-
Sığır (60)	21 (%35)	1 (%1,6)	-
<b>Toplam</b>			
Koyun (330)	154 (%46,6)	110 (%33,3)	2 (%0,6)
Keçi (300)	49 (%16,3)	-	-
Sığır (334)	23 (%6,9)	1 (%0,3)	-

## 5. TARTIŞMA

Önemli hayvansal protein kaynaklarından olan kırmızı et ve süt başta olmak üzere çeşitli hayvansal ürünlere olan ihtiyacı karşılamak için dünyanın pek çok ülkesinde sığır, koyun ve keçi gibi evcil geviş getiren hayvanların yetiştiriciliği uzun yıllardan beri yapılmaya devam edilmektedir. Türkiye de dâhil olmak üzere bu hayvanların yetiştirilmesinde karşılaşılan başlıca problemlerden biri de etiolojisinde parazitlerin rol oynadığı hastalıklardır. Bu hastalıklar içerisinde de theileriosis ve babesiosis; gerek verim düşüklükleri ve ölümler, gerekse tanı ve tedavi giderleri gibi, sebep oldukları ekonomik kayıplar nedeniyle önlemler alınması ve mücadele edilmesi gereken oldukça ciddi hastalıklardır. Bu hastalıklara karşı önlem almak ve mücadele etmek için öncelikle bu hayvanlarda parazitlenen ve hastalık etkenleri olan *Theileria* ve *Babesia* türleri ile bunlara vektörlük yapan kene türlerinin varlıklarının, yayılışlarının ve konaklarının ortaya konması gerekmektedir.

Dünya'da ve Türkiye'de *Theileria* ve *Babesia* türlerinin teşhis edilmesi ve yaygınlıklarının araştırılması amacıyla uzun yıllar boyunca mikroskopik bakıya dayalı tanı yöntemlerinden yararlanılmıştır. Günümüzde de bu hastalıklardan şüphelenilmesi durumunda ilk başvuru yöntem ucuz, hızlı ve pratik olması nedeniyle hala mikroskopik bakı yöntemidir. Buna karşın; türlerin morfolojik olarak birbirlerinden ayırt edilmesindeki güçlük, latent ve kronik enfeksiyonlar gibi bazen kandaki parazitemi oranının oldukça düşük seviyelerde seyrettiği vakalar gibi durumlarda mikroskopik bakı yönteminin güvenilirlik açısından yetersiz kaldığı gözlenmektedir (Böse ve ark, 1995; Gubbels ve ark, 1999; Almeria ve ark, 2001; Schnittger ve ark, 2004; Ndao, 2009; Mans ve ark, 2015). Bu nedenle, teknolojinin de ilerlemesine paralel olarak zaman içerisinde hastalıkların tanısı amacıyla daha güvenilir yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla; parazitlere ait antijenler ile bu antijenlere karşı bağışıklık sistemi tarafından şekillendirilmiş olan antikorların saptanmasına yönelik serolojik tanı yöntemleri veya parazite ait genetik materyal olan nükleik asitlerin (DNA, RNA) tespitine yönelik moleküler tanı yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler subklinik veya latent enfeksiyonlar ile düşük parazitemi ile seyreden vakaların ve taşıyıcı hayvanların tespitinde mikroskopik tanıya kıyasla çok daha duyarlı sonuçlar verebilmektedirler (Böse ve ark, 1995; Gubbels ve ark, 1999; Almeria ve ark, 2001; Schnittger ve ark, 2004; Mosqueda ve ark, 2012; Rajendran ve Ray, 2014; Eshetu, 2015; Lu ve ark, 2015; Mans ve ark, 2015).

Theileriosis ve babesiosis tanısı amacıyla kullanılan serolojik yöntemler arasında; indirekt floresan antikor testi (IFAT), komplement fiksasyon testi (CFT), enzim bağımlı immunosorbent testi (ELISA), slide enzim bağımlı immunosorbent test (SELISA), hemaglutinasyon inhibisyon (HI), indirekt hemaglutinasyon (IHA), immunokromatografik strip (ICS), lateks aglutinasyon testi (LAT), card aglutinasyon testi (CAT), radyo immunoassay (RIA) ve immuno kromatografi testi (ICT) gibi yöntemler sayılabilmektedir. Ancak her ne kadar serolojik tanı yöntemleri mikroskopik yöntemlere göre daha duyarlı olsa da, türe özgü immün yanıtın zayıf oluşu nedeniyle farklı türler arasında şekillenebilen çapraz reaksiyonlar veya etkenler tamamen ortadan kaldırıldığı halde antikorların varlığı nedeniyle şekillenen seropozitiflik gibi yanlış sonuçlar da alınabilmektedir. Bu gibi durumlar da serolojik testlerin güvenilirliğinin sorgulanmasına sebep olmaktadır. Yine de serolojik yöntemler diğer tanı yöntemlerini destekleyici amaçlı olarak veya seroprevalans çalışmalarında kullanılmaya devam edilmektedir (Böse ve ark, 1995; İlhan, 1999; Bock ve ark, 2004; Kim ve ark, 2008; Bilgiç, 2010; Mosqueda ve ark, 2012; Rajendran ve Ray, 2014; Eshetu, 2015; Lu ve ark, 2015; Mans ve ark, 2015).

Son yıllarda dünyada geniş bir kullanım alanı bulmuş olan nükleik asit tabanlı tanı yöntemleri, *Theileria* ve *Babesia* türlerinin teşhisi amacıyla Türkiye de dâhil olmak üzere pek çok ülkede yürütülen çeşitli çalışmalarda kullanılmış ve kullanılmaya da devam edilmektedir. Parazite ait nükleik asitlerin hedeflendiği bu tanı yöntemleri duyarlılık ve özgüllük konusunda oldukça sağlıklı ve güvenilir sonuçlar vermektedirler (Bilgiç ve ark, 2010; 2013; 2017a; Mans ve ark, 2015; Eshetu, 2015). Kene kaynaklı kan parazitlerinin tanısında en yaygın olarak kullanılan moleküler yöntemler arasında; Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Reverse Line Blotting (RLB) Hibridizasyon, Gerçek Zamanlı (real-time) PCR ve Loop Mediated Amplification (LAMP), Self Sustaining Sequence Replication (3SR-diğer isimleri; Nucleic Acid Sequence Based Amplification-NASBA ve Transcription Mediated Amplification-TMA), pan-FRET ve High Resolution Melt Analysis gibi metotlar sayılabilmektedir (Criado-Fornelio, 2007; Mans ve ark, 2015; Eshetu, 2015).

Bu tez çalışmasında da yukarıda bahsedilen moleküler tanı yöntemlerinden biri olan RLB tekniğinden yararlanılmıştır. Çalışmanın birinci amacını; Burdur ili dahilinde sığır, koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin varlıklarının ve yaygınlıklarının moleküler düzeyde ortaya konması, ikinci amacını ise türe özgü parazitlendiği bilinen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin sığırlar ile koyun ve keçiler arasındaki olası çapraz enfeksiyon durumlarını araştırmak oluşturmuştur. Diğer bir deyişle sığırlara özgü

türlerin koyun ve keçilerde, koyun ve keçilere özgü türlerin ise sığırlarda parazitlenebilmeleri olasılığı araştırılmıştır. Eş zamanlı olarak çok sayıda şüpheli örneğin, çok sayıda parazit türü yönünden incelenebilmesini mümkün kılan RLB yöntemi (Gubbels ve ark, 1999; Schnittger ve ark, 2004) bu nedenle tercih edilmiştir.

Piroplasmida takımında yer alan *Theileria* ve *Babesia* türleri ile ilgili bilgi sahibi olunmaya başlanmasından itibaren günümüze kadar yürütülmüş ve günümüzde de devam etmekte olan pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların neticesi olarak günümüzde; sığırlarda parazitlendiği tespit edilen yedi *Theileria* ve sekiz *Babesia* türü bulunmaktadır (Nikolskii ve ark, 1977; Minami ve Ishihara, 1980; Gray ve De Vos, 1981; Soulsby, 1982; Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; Bai ve ark, 2002a; Bock ve ark, 2004; Altay ve ark, 2007a). Koyun ve keçilerde ise parazitlendiği saptanan dokuz *Theileria* ve yedi *Babesia* türü olduğu bilinmektedir (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Luo ve ark, 2002; Bai ve ark, 2002b; Bock ve ark, 2004; Uilenberg, 2006; Guan ve ark, 2009; 2010; Liu ve ark, 2012; Bilgiç ve ark, 2017a).

Sığırlarda parazitlendiği bilinen *Theileria* türleri; *T. annulata*, *T. parva*, *T. mutans*, *T. sergenti/buffeli/orientalis*, *T. taurotragi*, *T. velifera* ve *T. sinensis* şeklinde sayılabilmektedir (Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; Altay ve Aktaş, 2004; Altay ve ark, 2007a; Chansiri ve ark, 1999; Bai ve ark, 2002a). Sığırlarda parazitlenen bu *Theileria* türlerinin vektörlüklerini ise, sert kene (Ixodidae) ailesinde yer alan *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, *Amblyomma* ve *Dermacentor* cinslerine bağlı çeşitli kene türlerinin yaptıkları bilinmektedir (Young ve ark, 1977a-b; 1978; Morzaria ve ark, 1981; Lawrence ve ark, 1983; Levine, 1985; Norval ve ark, 1992).

Türkiye’de, uzun yıllardır yapılan pek çok araştırma sonucunda sığırlarda tropikal theileriosis hastalığının etkeni olan ve yüksek patojeniteye sahip *T. annulata* ile daha az patojen olan *T. buffeli/orientalis* türlerinin bulunduğu tespit edilmiştir (Vatansever ve ark, 2002; Karagenç ve ark, 2005b; Altay ve ark, 2007a; Peker, 2014). Sığır theileriosis etkenlerinin Türkiye’deki yayılışına ait mikroskopik, serolojik ve moleküler yöntemlerin kullanıldığı pek çok çalışma bulunmaktadır (Sayın ve ark, 1994; 2003a; Vatansever ve Nalbantoğlu, 2002; Karagenç ve ark, 2005a-b; Dumanlı ve ark, 2005; Altay ve ark, 2007a). Bu çalışmalar içerisinde RLB yönteminin kullanıldığı bazı çalışmaların sonuçlarına göre; Ankara’da % 36,6 oranında *T. annulata*, % 11,8 oranında *T. buffeli/orientalis* ve % 8,4 oranında da miks enfeksiyon saptanmıştır (Vatansever ve ark, 2002). Aydın’da *T. annulata* ve *T. buffeli*’nin görülme oranları sırasıyla % 30 ve % 0,99 olarak tespit edilmiştir (Karagenç ve ark, 2005b). Kayseri’de sığırlar

üzerinden toplanan kenenler RLB ile incelenmiş ve % 9,3 oranında *T. annulata* pozitifliği saptanmıştır (İça ve ark, 2007a). Yine Kayseri’de sığırlardaki pozitiflik oranları; *T. annulata* ve *T. buffeli/orientalis* için sırayla % 18,1 ve % 0,9 şeklinde belirlenmiştir (İça ve ark, 2007b). Erzincan’da ise yine RLB’ den yararlanılan bir çalışmada (Altay ve ark, 2007a) sığırlardaki pozitiflik oranları; *T. annulata* ve *T. buffeli/orientalis* için sırayla % 15,45 ve % 9,76 olarak saptanmıştır. Trakya bölgesinde % 2,61 oranında *T. annulata*’ya rastlanırken, *T. buffeli/orientalis* % 18,26 gibi yüksek bir oranda görülmüştür (Bilgin, 2007). Benzer şekilde Doğu Karadeniz Bölgesi’nde sığırlardaki pozitiflik oranlarının; *T. annulata* ve *T. buffeli/orientalis* için sırayla % 1,28 ve % 11,56 şeklinde olduğu görülmüştür (Altay ve ark, 2008b). Yine Karadeniz Bölgesi’nde yukarıdakine benzer şekilde *T. annulata* için % 2 ve *T. buffeli/orientalis* için de % 20,6’lık bir yaygınlık bulunmuştur (Düzlü ve ark, 2011). Ege Bölgesi illerinden; Aydın’da % 54,92, Manisa’da % 48,14 ve İzmir’de % 23,41 oranında *T. annulata*’ya rastlanmış, İzmir’deki bir hayvanda (% 0,037) ise *T. annulata* + *T. buffeli* miks enfeksiyonu görülmüştür (Peker, 2014). Karadeniz Bölgesi’nde sığırlar ve üzerlerinden toplanan kenelerin RLB ile incelendiği bir çalışmada ise her hangi bir *Theileria* türüne rastlanmamıştır (Aktaş ve Özübek, 2015).

Bu çalışmada ise Burdur iline bağlı Ağlasun, Bucak, Gölhisar, Merkez ve Yeşilova ilçelerinden meraya çıkan toplam 334 adet sığıra ait kan örnekleri RLB ile taranmış; yalnızca Ağlasun’da bir hayvanda (% 1) *T. annulata* ve Yeşilova’daki bir hayvanda ise (% 1,6) *T. annulata* + *Babesia* spp. miks enfeksiyonu saptanmış, Bucak, Gölhisar ve Merkez ilçelerden toplanarak incelenen sığır kan örneklerinde *Theileria* türlerine rastlanılmamıştır. Yine hiçbir örnekte *T. buffeli/orientalis* ile karşılaşılmamıştır. Sonuç olarak Burdur ilinden toplanarak incelenen 334 sığıra ait kan örneğindeki *T. annulata* pozitifliği % 0,6 (2/334) gibi düşük bir oranda kalmıştır. Burdur ilini temsilen *T. annulata* pozitifliğini gösteren bu sonuç; Ankara (% 36,6) (Vatansever ve ark, 2002), Aydın (% 30-54,92) (Karagenç ve ark, 2005b; Peker, 2014), Kayseri (% 9,3-18,1) (İça ve ark, 2007a-b), Erzincan (% 15,45) (Altay ve ark, 2007a), Manisa (% 48,14) (Peker, 2014) ve İzmir (% 23,41) (Peker, 2014) illerindeki sonuçlarla karşılaştırıldığında oldukça düşük bir yüzdede kaldığı görülmektedir. Sonuçlar en yakın olarak Doğu Karadeniz (% 1,28) (Altay ve ark, 2008b), Karadeniz (% 0-2) (Düzlü ve ark, 2011; Aktaş ve Özübek, 2015) ve Trakya (% 2,61) (Bilgin, 2007) sonuçlarına benzer görülebilmekte olmasına karşın bu sonuçlara göre bile oldukça düşük seviyededir. Ayrıca Karadeniz (Düzlü ve ark, 2011), Trakya (Bilgin, 2007) ve Doğu Karadeniz’deki (Altay ve ark, 2008b) yüksek yüzdeli (sırasıyla; % 20,6, % 18,26 ve % 11,56) *T. buffeli/orientalis* oranları da bu benzerliği bozmaktadır. Dolayısıyla RLB’ den

yararlanılarak sığır *Theileria* türlerinin araştırıldığı çalışmalar içerisinde; Aktaş ve Özübek (2015)'in sonuçlarının (% 0) haricinde, en düşük yüzdeye sahip sonuçlar bu çalışmada (% 0,6) ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada özellikle sığır theileriosis etkenlerinin bu kadar düşük bir yüzde ile seyretmelerinin sebebi olarak iki önemli husus üzerinde durulabileceği düşünülmektedir. Örneklerin toplandıkları bölgelerdeki gerek hayvan sahipleri ve gerekse kamu görevlisi veya serbest çalışan veteriner hekimlerle yapılan konuşmalar sonucunda, hayvan sahiplerinin geçmiş yıllara göre çok daha bilinçli, kontrollü ve sürekli bir kene mücadelesi yürüttükleri ve sığır theileriosis aşı uygulamalarına daha fazla önem verdikleri bilgilerine ulaşılmıştır. Yine Burdur ilinde yürütülmüş olan bir çalışmada sığır, koyun ve keçiler üzerinden toplanan keneler incelenmiş ve sığırların üzerinden toplanan 863 adet kenenin tür tayinleri sonucu; *R. turanicus* (% 52,9), *R. (B.) annulatus* (% 34,2), *Hae. parva* (% 4,3), *D. marginatus* (% 0,9), ve *H. marginatum* (% 0,8) türlerinin varlığı ortaya konmuştur (Yukarı ve Umur, 2002). Bu iki çalışmanın sonuçlarına bakılarak; Türkiye'de karşılaşılan *T. annulata* ve *T. buffeli/orientalis* türlerine vektörlük yapan *Hyalomma*, *Haemaphysalis* ve *Dermacentor* cinsi kenelerin bu bölgedeki yayılışlarının geçmişte de çok yoğun olmayışı ve yürütülen kene mücadelesi ile aşı çalışmaları sayesinde sığır *Theileria* türlerinin bu bölgelerde oldukça düşük seviyelerde kalmış oluşunun açıklanabileceği düşünülmektedir.

Sığırlarda parazitlenen *Babesia* türlerine bakıldığı zaman; *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens*, *B. major*, *B. ovata*, *B. occultans*, *B. jakimovi* ve *B. beliceri* ile karşılaşılmaktadır (Minami ve Ishihara, 1980; Gray ve de Vos, 1981; Soulsby, 1982; Levine, 1985; Lou ve ark, 2002; Uilenberg, 2006; Taylor ve ark, 2007). Bu türlere vektörlük yapan keneler ise *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma* ve *Ixodes* cinslerinde yer alan çeşitli türlerdir (Neitz, 1956; Dipeolu ve Amoo, 1984; Levine, 1985; Luo ve ark, 2002; Yukarı, 2004; Taylor ve ark, 2007; Ros-Garcia ve ark, 2011).

Türkiye'de günümüze kadar yapılan mikroskopik, serolojik ve moleküler düzeydeki pek çok çalışmanın sonucunda sığırlarda parazitlenen bu türlerden *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens*, *B. major* ve *B. occultans*'ın varlığı tespit edilebilmiştir (Tanyüksel ve ark, 2002; Vatansever ve ark, 2002; Aktaş ve Özübek, 2015). Araştırma yöntemi olarak RLB tekniğinden yararlanılan çalışmaların sonuçları incelendiği zaman; Ankara'da sığırlarda *B. bigemina* % 3,6, *B. bovis* % 2,8, *B. divergens* % 1,1 ve *B. major* % 0,2 oranlarında tespit edilmiştir (Vatansever ve ark, 2002). Yine Ankara'daki başka bir çalışmada (İça, 2004), *B. bigemina* % 4, *B. bovis* % 2,33, *B. divergens* % 1,66, *B. bigemina* + *B. bovis* % 1 ve *B. bigemina* + *B. divergens* de yine % 1 şeklinde bulunmuştur. Aydın'daki bir çalışmada



(Karagenç ve ark, 2005b) *B. bovis* yaygınlığı % 8 ve % 25 olarak saptanmıştır. Kayseri’de sığırlar üzerinden toplanan kenelerde RLB ile; *B. bigemina* % 14, *Babesia* spp. % 2,3 oranlarında tespit edilirken, yine % 2,3 oranında da *B. bigemina* + *T. annulata* ikili enfeksiyonuna rastlanmıştır (İça ve ark, 2007a). Trakya’da yürütülen çalışmada (Bilgin, 2007) % 1,3’lük bir *B. bovis* pozitifliği saptanmıştır. Doğu Karadeniz’deki bazı illerde yürütülen çalışmada (Altay ve ark, 2008b), RLB ile *B. bigemina*, *B. major* ve *Babesia* spp. için yayılış oranları sırasıyla % 0,77, % 0,51 ve % 1,28 olarak bulunmuş, % 0,25 oranında da *B. bigemina* + *T. buffeli/orientalis* saptanmıştır. Aynı illeri kapsayan diğer bir çalışmada (Aktaş ve ark, 2012) ise sığırlar üzerinden toplanan keneler RLB ile incelenmiş, % 4,46 oranında *Babesia* spp. ile karşılaşılmış ve bir örnekteki *Babesia* türünün sekans analiz sonucu % 99 oranında *B. occultans*’a benzerlik göstermesine karşın 346 nükleotidin net bir şekilde analiz edilememesinden dolayı kesin bir sonuç ortaya konamamıştır. Karadeniz Bölgesi’ndeki bir diğer çalışmada (Düzlü ve ark, 2011) RLB ile türlerin bu bölgedeki yaygınlıkları; *B. bovis* için % 1,8 ve *B. bigemina* için ise % 2,2 şeklinde bulunmuştur. Ege ve Marmara Bölgeleri’ndeki Aydın, Balıkesir, İzmir, Kütahya, Bursa, Çanakkale, İstanbul, Kocaeli ve Sakarya’dan oluşan dokuz ilden toplam 235 sığıra ait kan örneği RLB ile incelenmiş ve yalnızca Aydın’daki bir sığırdaki *B. bovis*’e rastlanmıştır. Bu sonuçla; incelenen 235 sığır içerisindeki *B. bovis* yaygınlığı % 0,42 oranında bulunmuştur (Yavuz ve ark, 2011). Türkiye’nin çeşitli illerinden toplanmış olan sığır kan örneklerinin incelendiği bir diğer çalışma (Yıldırım ve ark, 2013) kapsamında ise RLB yöntemi ile *B. bovis* % 4,5, *B. bigemina* % 14,75, *Babesia* spp. % 4 ve *B. bovis* + *B. bigemina* ise % 0,5 oranlarında bulunmuştur. Yine Ege Bölgesi’ndeki bir çalışmanın (Peker, 2014) sonuçlarına göre; *B. bovis* Aydın’da % 0,97, İzmir’de % 3,67 ve Manisa’da % 0,19 oranlarında görülürken, *B. bigemina* ise İzmir’in Kınık ilçesinde % 1,45 ve Manisa’nın Alaşehir ilçesinde % 0,34 oranlarında görülmüş, Aydın’da *B. bigemina*’ya rastlanmamıştır. Ayrıca İzmir Tire’deki bir örnekte *B. bovis* + *T. annulata* ikili enfeksiyonu ile karşılaşılmıştır (Peker, 2014). Karadeniz Bölgesi’ndeki bir çalışmada (Aktaş ve Özübek, 2015); *B. bovis* % 9, *B. occultans* % 3, *B. bigemina* % 1 ve *B. bigemina* + *B. bovis* ikili enfeksiyonu da % 1 oranında görülmüştür. Aynı çalışmada (Aktaş ve Özübek, 2015) bir sığırdaki *B. divergens* saptanmış ve bunun Türkiye’de sığırlarda *B. divergens*’ten kaynaklanan ilk klinik babesiosis vakası olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda ise Burdur’dan toplanarak incelenen tüm sığır kan örnekleri içerisinde % 3,3 (11/334) oranında *B. bovis* ve yine % 3,3 (11/334) oranında da *Babesia* spp. pozitif örnekle karşılaşılmış, bir hayvanda ise (% 0,3) *T. annulata* + *Babesia* spp. ikili enfeksiyonu

saptanmıştır. Sığır *Babesia* türlerinin en yaygın görüldüğü ilçe Yeşilova olmuştur. Tüm ilçeler dâhilinde *B. bovis* pozitif bulunan 11 sığırın tamamı Yeşilova'da görülürken, *Babesia* spp. pozitif hayvanların ise 10'u Yeşilova'da ve biri de Ağlasun'da tespit edilmiştir. Yine bir adet *T. annulata* + *Babesia* spp. enfeksiyonu da Yeşilova'da görülmüştür. Bucak, Gölhisar ve Merkez ilçelerde incelenen sığırlarda ise herhangi bir *Babesia* türüne rastlanılmamıştır. Elde edilen bu veriler, daha önce çeşitli bölgelerde yürütülmüş olan benzer çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Buna göre; Burdur'daki *B. bovis* yaygınlığının (% 3,3); Ankara (% 2,33-2,8) (Vatansever ve ark, 2002; İça, 2004), Trakya (% 1,3) (Bilgin, 2007), Karadeniz (% 1,8-% 9) (Düzlü ve ark, 2011; Aktaş ve Özübek, 2015) ve Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan örneklerin incelendiği çalışmanın (% 4,5) (Yıldırım ve ark, 2013) sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür. Buna karşın Aydın'da 2005 yılındaki (Karagenç ve ark, 2005b) sonuçlara (% 8-25) göre düşük fakat 2014 yılındaki (Peker, 2014) sonuçlara (% 0,97) göre ise yüksek bulunmuştur. Burdur'da saptanan % 3,3'lük *Babesia* spp. oranına bakıldığı zaman ise; Kayseri (% 2,3) (İça ve ark, 2007a), Doğu Karadeniz (% 1,28-% 4,46) (Altay ve ark, 2008b; Aktaş ve ark, 2012) ve Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan örneklerden oluşan (% 4) (Yıldırım ve ark, 2013) çalışmaların sonuçlarına benzer veriler elde edildiği görülmüştür. Burdur'da sığır babesiosis etkenlerinin yayılışları ile ilgili olarak *B. bovis* ve *Babesia* spp.'ye ait sonuçların genel olarak diğer çalışmaların sonuçlarından çok ciddi farklılıklar göstermemiş olduğu gözlenmiştir. Diğer bazı çalışmalarda tespit edilen *B. bigemina*, *B. divergens*, *B. major* ve *B. occultans* türlerine ise bu çalışmada rastlanılmamıştır. Zaman ve ekstra maliyet nedeniyle *Babesia* spp. pozitif gelen örneklere türe özgü PCR veya sekans analizi yapılamamıştır. Tespit edilemeyen türlerin araştırılması için ileride bu yöntemlerin uygulanacağı çalışmaların da tasarlanabileceği düşünülmektedir. Yine bu çalışmadaki gibi; Aydın'da (Karagenç ve ark, 2005b; Peker, 2014) ve Trakya'da (Bilgin, 2007) da *B. bovis* haricindeki türlerle karşılaşılma, İzmir (% 1,45) ve Manisa'da (% 0,19) ise çok düşük yüzdeli olarak *B. bigemina* görülmüştür (Peker, 2014). Ayrıca yine bir başka çalışmanın (Yavuz ve ark, 2011) neticesinde Balıkesir, İzmir, Kütahya, Bursa, Çanakkale, İstanbul, Kocaeli ve Sakarya'dan toplanan sığır kan örneklerinde RLB ile *Babesia* türlerine rastlanılmamıştır. Karadeniz Bölgesi'ndeki bir çalışmada (Düzlü ve ark, 2011) *B. bovis* (% 1,8) ve *B. bigemina* (% 2,2) dışındaki türler görülmemiş, bu bölgedeki bir diğer çalışmada (Aktaş ve Özübek, 2015) ise bunlara ek olarak *B. occultans*'in varlığı ortaya konmuştur. Yine Türkiye'nin çeşitli illerinden toplanan sığır kan örneklerinin incelendiği bir çalışmada (Yıldırım ve ark, 2013) *B. bovis* ve *Babesia* spp. haricinde; % 14,75 oranında *B. bigemina* ve % 0,5 oranında da *B. bovis* + *B. bigemina* miks enfeksiyonuna rastlanmıştır. Doğu

Karadeniz’de ise çok düşük yüzdeli olarak *B. bigemina* (% 0,77) ve *B. major* (% 0,51) görülmüş (Altay ve ark, 2008b), aynı bölgedeki bir diğer çalışmada (Aktaş ve ark, 2012) ise *Babesia* spp. (% 4,46) ve bir hayvanda *B. divergens* ile karşılaşmıştır. Bütün bu veriler incelendiği zaman; bu çalışmanın sonuçlarının karşılaştırılan tüm çalışmaların sonuçları ile çok ciddi farklılıklar taşımadığı söylenebilmektedir.

Bu çalışma kapsamında RLB ile incelenen örnekler içerisinde, *Babesia* spp. probuna bağlandığı halde her hangi bir *Babesia* türüne özgü proba bağlanmayan örneklerin türe özgü PCR ve/veya sekans analizi yardımı ile tür tayinlerinin yapılması gerekmektedir. Zaman ve maddi kaynak gibi sebeplerden dolayı bu çalışmaya dâhil edilememiş olan bu fazladan analizlerin, bölgede ilerleyen zamanlarda yürütülmesi planlanan benzer çalışmalar kapsamında uygulanması düşünülmektedir.

Burdur’da yürütülmüş olan bir başka çalışma kapsamında; 756 sığırın üzerinden toplanan 863 adet keneye tür tayini yapılmış ve *R. turanicus* (% 52,9), *R. (B.) annulatus* (% 34,2), *Hae. parva* (% 4,3), *D. marginatus* (% 0,9) ve *H. marginatum* (% 0,8) türleri ile karşılaşmıştır. Sığırların üzerinden toplanan keneler içerisinde, *B. divergens*’in vektörü olan *I. ricinus* tespit edilmemiş, bu kene türü yalnızca koyunlardan toplanan keneler içerisinde çok düşük yüzdeye sahip bir oranda (% 0,05) görülmüştür (Yukarı ve Umur, 2002). Bunun da Burdur’da *B. divergens* ile karşılaşılmamış olmasını destekleyen bir veri olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir. Ancak *B. bigemina*’nın ve *B. major*’un vektörü olan *R. (B.) annulatus* ile bu bölgede yüksek bir oranda (% 34,2) karşılaşılmasına rağmen bu türler bu çalışmada tespit edilememiştir. Yine *B. occultans*’ın vektörü olan *H. marginatum* da çok az bir oranda da olsa (% 0,8) bu bölgede görülmüş fakat *B. occultans* saptanamamıştır. Yukarıda sığır *Theileria* türlerine ait veriler de değerlendirilirken bahsedildiği gibi, kan örneği toplanan bölgelerdeki özellikle sığır yetiştiricilerinin son yıllarda kene mücadelesine gereken önemi vermeye başladığı öğrenilmiş hatta tarafımızca gözlemlenmiştir. Sığır *Babesia* türlerinin Bucak, Gölhisar ve Merkez ilçelerde görülmemiş, Ağlasun’da ise yalnızca bir hayvanda görülmüş olmasında bu bilinçli kene mücadelesinin önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir. Yeşilova’da ise diğer ilçelerle kıyaslandığında sığır *Babesia* türlerinin görülme oranının yüksek bir yüzdeye (*B. bovis* % 18,3; *Babesia* spp. % 16,6) sahip olduğu görülecektir. Toplanan örneklerle ait bilgiler kontrol edildiğinde pozitif bulunan bu örneklerin tamamının, geçmiş yıllarda pek çok defa babesiosis vakalarının görüldüğü bildirilen Yeşilova’ya bağlı Güney kasabasındaki çeşitli köylerden toplanmış olduğu fark edilmiştir. Ancak kan örneği alınan hayvanlar içerisinde klinik belirti gösteren bir hayvana veya şikâyetinde bulunan bir yetiştiriciye rastlanmamıştır.

Dolayısıyla bunların taşıyıcı hayvanlar olabileceği düşünülmeli ve kene mücadelesinin sürdürülmemesi durumunda bu bölgede sığır babesiosisinin salgın halini alabileceği ihtimali akıldan çıkarılmamalı, buna uygun önlemler alınmaya devam edilmelidir.

Koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* türleri; *T. ovis*, *T. lestoquardi* (= *T. hirci*), *T. recondita*, *T. separata*, *T. luwenshuni* (= *T. sp. China 1*), *T. uilenbergi* (= *T. sp. China 2*), *T. sp. OT1*, *T. sp. OT3* ve *T. sp. MK* olarak bilinmektedir (Preston, 2001; Schnittger ve ark, 2003; 2004; Nagore ve ark. 2004; Altay ve ark, 2007c; Yin ve ark, 2007; Mans ve ark, 2015; Bilgiç ve ark, 2017a). Bunların vektörlüklerini ise; Ixodidae ailesinden *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma* ve *Rhipicephalus* ile Argasidae ailesinden de *Ornithodoros* cinslerinde yer alan çeşitli kene türleri yapmaktadırlar (Neitz, 1956; Uilenberg ve Schreuder, 1976; Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; Taylor ve ark, 2007; 2016; Li ve ark, 2009).

Türkiye’de de koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* türleri üzerine mikroskopik, serolojik ve moleküler düzeyde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Özellikle serolojik ve moleküler çalışmalar sayesinde daha sağlıklı bir yayılış ile birlikte bazı yeni türlerin de varlığı ortaya konmuştur. Türkiye’de günümüze kadar tespit edilen türler; *T. ovis*, *T. luwenshuni*, *T. uilenbergi*, *T. sp. OT1*, *T. sp. OT3*, *T. sp. MK* ve *T. separata*’dır (Aktaş ve ark, 2005a; İça ve ark, 2005; Altay ve ark, 2005; 2007b-c; 2012; Saraylı ve ark, 2006; İnci ve ark, 2010; Aydın ve ark, 2013; Zhou ve ark, 2016; Bilgiç ve ark, 2017a).

Türkiye’de koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* türlerinin RLB yönteminden yararlanılarak araştırıldığı bazı çalışmaların sonuçları aşağıda incelenmiştir. Buna göre; Kayseri’de koyunlarda *T. ovis* yaygınlığı % 34,2 olarak bulunmuştur (İça ve ark, 2005). Yine Kayseri’nin bu defa Yeşilhisar ilçesinde koyun ve keçilerde RLB ile % 35,33 oranında *T. ovis* ve % 2,34 oranında da *T. ovis* + *B. ovis* ikili enfeksiyonu tespit edilmiştir (Saraylı ve ark, 2006). Doğu Anadolu Bölgesi’nde ise *T. ovis* % 34,56, *T. sp. MK* % 1,3 ve *T. sp. OT3* ise % 0,43 oranlarında görülmüş ve *T. sp. MK* ilk kez bu çalışmada yeni bir tür olarak tanımlanmıştır (Altay ve ark, 2007c). Bir diğer çalışmada (İnci ve ark, 2010) *T. ovis*’in yaygınlığı Kayseri’de % 34,3, Yozgat’ta % 40 ve Sivas’ta ise % 17,6 şeklinde bulunurken, Kayseri’de ayrıca % 2 oranında *T. ovis* + *B. ovis* ikili enfeksiyonu görülmüştür. Doğu Karadeniz’deki bir çalışmada (Altay ve ark, 2012) *T. ovis* % 18,9, *T. sp. MK* % 0,99 ve *T. sp. OT3* ise % 0,49 oranında görülürken yine % 0,49 oranında *T. ovis* + *T. sp. MK* ikili enfeksiyonu ile karşılaşılmıştır. Yine Karadeniz Bölgesi’nde koyun ve keçilerde *T. ovis* % 28,98, *T. sp. OT3* % 2,03 ve *T. sp. MK* ise % 0,62 oranlarında görülmüştür (Aydın ve ark, 2013). İç Anadolu Bölgesi’ndeki 13 ilde yürütülen bir çalışmada

(Zhou ve ark, 2016); *T. ovis* % 35,9 oranında görülürken, *T. ovis* + *B. ovis* + *A. ovis* % 2,3, *T. ovis* + *B. ovis* % 1,5, *T. ovis* + *A. ovis* % 26,2 şeklinde bulunmuştur. Bilgiç ve ark (2017a)'nın yürüttüğü, başta Ege olmak üzere Marmara, Akdeniz, İç Anadolu, Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgeleri'nden 19 ili kapsayan geniş çaplı bir çalışmanın sonuçlarına bakıldığı zaman ise RLB ile tespit edilebilen türler; *T. ovis* (% 60), *T. luwenshuni*, *T. uilenbergi*, *T. sp. OT1*, *T. sp. OT3*, *T. separata* ve *T. sp. MK* olurken, *T. luwenshuni*, *T. uilenbergi* ve *T. sp. OT1* Türkiye'den ilk kez bildirilmiş ve *T. separata*'nın da Türkiye'deki ilk moleküler tespiti yapılmıştır. Aynı çalışmada (Bilgiç ve ark, 2017a) Burdur ilinde çeşitli ilçelerden toplanan koyun ve keçi kan örneklerinde RLB ile tespit edilen *Theileria* türleri ve Burdur'daki yayılışları; *T. ovis* % 62,77 ve *T. sp. OT1* % 2,91 şeklinde iken, PCR ile tespit edilen *Theileria* türleri ve Burdur'daki yayılışları ise; *T. ovis* % 70,8, *T. uilenbergi* % 8,75, *T. luwenshuni* % 2,18 ve *T. sp. MK* % 0,72 şeklinde olmuştur.

Bu çalışmada ise Burdur iline bağlı beş ilçeden toplanan 630 adet küçük ruminanta (330 koyun ve 300 keçi) ait kan örnekleri RLB ile *Theileria* ve *Babesia* türleri yönünden incelenmiştir. Tespit edilebilen tek *Theileria* türü *T. ovis* olmuş, bunun yanında üç tane keçide de *Theileria/Babesia* spp. saptanmıştır. Tekli veya diğer *Babesia* türleri ile birlikte çoklu enfeksiyon şeklinde olmasına bakılmaksızın, *T. ovis*'in koyunlardaki görülme oranı % 79,69, keçilerde % 0,3 ve tüm küçük ruminantlarda ise % 41,9 şeklinde hesaplanmıştır. *Theileria/Babesia* spp. ise keçilerde % 1 şeklinde görülürken, tüm küçük ruminantlar içerisindeki oranı ise % 0,47 olmuştur. Bu veriler yukarıda bahsedilen benzer çalışmaların verileri ile karşılaştırılacak olursa, bu çalışma ile tespit edilen Burdur'daki *T. ovis* yaygınlığı (% 41,9); Kayseri (% 34,2, % 35,33, % 34,3), Doğu Anadolu Bölgesi (% 34,56) ve İç Anadolu Bölgesi (% 35,9)'nde yürütülen çalışmaların sonuçlarının biraz üzerinde olsa da yine de benzerlik göstermektedir (İça ve ark, 2005; Saraylı ve ark, 2006; Altay ve ark, 2007c; İnci ve ark, 2010; Zhou ve ark, 2016). Buna karşın Sivas (% 17,6), Doğu Karadeniz (% 18,9) ve Karadeniz (% 28,98) Bölgeleri'nde saptanan *T. ovis* yaygınlığının çok üzerinde olduğu görülmüştür (İnci ve ark, 2010; Altay ve ark, 2012; Aydın ve ark, 2013). Diğer taraftan ise bu sonuçların; Yozgat (% 40) ile neredeyse bire bir uygunluk gösterdiği, Bilgiç ve ark (2017a) tarafından tespit edilen, beş farklı coğrafi bölgedeki 19 ilden toplam *T. ovis* yaygınlığı (% 60) ve aynı çalışma kapsamında Burdur'daki *T. ovis* yaygınlığının (% 62,77) ise altında kaldığı görülmüştür (İnci ve ark, 2010; Bilgiç ve ark, 2017a). Ancak bu çalışmadaki % 41,9'luk *T. ovis* yaygınlığı 330 koyun ve 300 keçiden oluşan 630 adet küçük ruminanta ait bir sonuçtur. Yalnızca koyunlardaki *T. ovis* yaygınlığı % 79,69 iken, keçilerde ise bu oran % 0,3 olarak kalmış ve bu da toplamdaki yüzdeyi düşürmüştür. Yine de Türkiye'nin farklı coğrafi

bölgelerinde yürütülmüş olan çeşitli çalışmaların sonuçları incelendiği zaman; *T. ovis* yaygınlığı konusunda çok büyük farklılıklar olmadığı ve bu çalışmanın verilerinin de (% 41,9), yukarıdaki çalışmaların sonuçları ile (% 17,6 - 62,77) uyumsuzluk göstermediği söylenebilmektedir. Koyun ve keçilerde parazitlendiği bilinen ve Türkiye’de de varlığı ortaya konmuş olan diğer *Theileria* türlerine ise bu çalışmada rastlanmamıştır. Bilgiç ve ark (2017a)’nın yürüttüğü çalışmada Burdur’da RLB ile *T. ovis* haricinde ayrıca *T. sp. OT1* de tespit edildiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise zaman ve maddi olanaklar nedeniyle ‘*T/B catch all*’ probuna bağlandığı halde her hangi bir *Theileria* veya *Babesia* türüne özgü proba bağlanmayan örneklerin, sekans analizi yapılma imkânı bulunamamıştır. Bu şekilde RLB ile türü belirlenemeyen şüpheli örnekler türe özgü PCR ve/veya sekans analizi yapılmak suretiyle diğer türlerin de varlığının saptanabilmesi ihtimali bulunduğu düşünülebilmektedir. İlerleyen zamanlarda bölgede yürütülmesi planlanan benzer başka çalışmalar kapsamında bu ‘*T/B catch all*’ probuna bağlandığı halde her hangi bir *Theileria* veya *Babesia* türüne özgü proba bağlanmayan şüpheli örneklerin türe özgü PCR ve/veya sekans analizi ile tür tayininin yapılması düşünülmektedir.

Burdur’da sığır, koyun ve keçilerde enfestasyona sebep olan kene türlerinin araştırıldığı bir çalışma (Yukarı ve Umur, 2002) kapsamında bu bölgede koyun ve keçiler üzerinden toplanarak tür tayini yapılan kene türleri ve yaygınlıkları belirlenmiştir. Buna göre koyunlarda *R. turanicus* (% 71,9), *R. bursa* (% 10,9), *Ornithodoros lahorensis* nimf (% 7,9), *Hae. parva* (% 5,4), *D. marginatus* (% 2,9), *D. niveus* (% 0,8), *H. excavatum* (% 0,05), *I. ricinus* (% 0,05) ve *Rhipicephalus* spp. nimf (% 0,05); keçilerde ise *R. turanicus* (% 63,6), *D. niveus* (% 20,3), *D. marginatus* (% 12,6), *Hae. parva* (% 3,1) ve *Rhipicephalus* spp. nimf (% 0,4) türlerinin enfestasyon oluşturduğu saptanmıştır. Ayrıca koyun ağıllarında *O. lahorensis* bulunmuştur (Yukarı ve Umur, 2002). Koyun ve keçiler üzerinden toplanan bu kenelerden; *R. bursa* başta olmak üzere *Hyalomma*, *Dermacentor* ve *Haemaphysalis* cinsine bağlı çeşitli kene türlerinin *T. ovis*’e vektörlük yaptıkları bilinmektedir (Yukarı, 2004). Dolayısıyla Burdur bölgesinde karşılaşılan bu kene türleri ve yaygınlıklarının, bu bölgede koyun ve keçilerde % 41,9 oranında görülen *T. ovis*’in bu yaygınlık oranı ile de uyumlu olduğu düşünülmektedir. Yüzde 41,9’luk bir yaygınlık oranına karşın, kan örneği toplanan hayvanlarda her hangi bir hastalık belirtisi gözlenmemiş veya yetiştiricilerden bununla ilgili bir şikâyet bildirim olmamıştır. Bu çalışmanın sonucunda koyun ve keçilerde patojen türler olan *T. lestoquardi*, *T. luwenshuni* ve *T. uilenbergi* ile karşılaşılması ve tespit edilen tek tür olan *T. ovis*’in hafif patojen olmasından dolayı koyun ve keçilerde neden olduğu enfeksiyonların selin seyirli oluşu ve çoğunlukla klinik belirtilere neden

olmayışının (Norval ve ark, 1992; Yukarı, 2004; Bilgiç ve ark, 2007a) bu durumun açıklaması olabileceği düşünölmektedir. Ayrıca koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* türlerine karşı en azından Türkiye’de pratikte kullanılmakta olan her hangi bir aşı bulunmayışı ve örneklerin toplandığı bölgelerdeki küçük ruminant yetiştiricilerinin, sığır yetiştiriciliğine oranla kene mücadelesine daha az önem vermekte olduklarının gözlemlenmiş olması da bölgedeki hiç de az olmayan (% 41,9) *T. ovis* yaygınlığı için makul açıklamalardan biri olarak düşünölmektedir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalar ışığında koyun ve keçilerde parazitlendiği tespit edilebilen *Babesia* türleri; *Babesia ovis*, *B. motasi*, *B. crassa*, *B. foliata*, *B. taylori* ve Çin’de tespit edilen yeni türler *B. sp. Xinjiang* ve *B. sp. BQ1*’dir (Starwar, 1935; Ray ve Raghavachari, 1941; Levine, 1985; Hashemi-Fesharki, 1997; Hashemi-Fesharki ve Uilenberg, 1981; Bai ve ark, 2002c; Liu ve ark, 2007; Guan ve ark, 2009). Bu türlerin vektörlüklerini ise *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Hyalomma*, *Dermacentor* ve *Haemaphysalis* cinslerinde yer alan çeşitli sert kene türlerinin yaptıkları bilinmektedir (Levine, 1985; Friedhoff, 1988; Kaufmann, 1996; Rommel, 2000; Guan ve ark, 2009; 2010; Aktaş, 2014; Orkun ve ark, 2014; Hornok ve ark, 2015; Taylor ve ark, 2016).

Türkiye’de de koyun ve keçilerde parazitlenen *Babesia* türlerinin ve yaygınlıklarının ortaya konmasını amaçlayan mikroskopik, serolojik ve moleküler tekniklerin kullanıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Sayın ve ark, 1997; 2009; İnci ve ark, 1998; 2010; Altay ve ark, 2007c; 2012; Aydın ve ark, 2013; Zhou ve ark, 2016; Bilgiç ve ark, 2017a). Bu çalışmalar ile Türkiye’deki varlığı tespit edilmiş olan koyun ve keçilerde parazitlendiği bilinen *Babesia* türleri; *B. ovis*, *B. motasi* ve *B. crassa*’dır (Aktaş ve ark, 2005b; 2007; İça ve ark, 2005; Aydın ve ark, 2013; Zhou ve ark, 2016; Bilgiç ve ark, 2017a).

Koyun ve keçilerde parazitlenen *Babesia* türlerinin Türkiye’deki yayılışları ile ilgili olarak RLB yönteminden yararlanılan bazı çalışmaların sonuçları aşağıda incelenmiştir. Buna göre; Kayseri’de yürütölen çalışmada (İça ve ark, 2005) bölgedeki *B. ovis* yaygınlığı RLB ile % 2,7 oranında bulunmuştur. Bir diğer çalışma (Saraylı ve ark, 2006) Kayseri’nin Yeşilhisar ilçesinde yürütölmüş ve küçük ruminantlardaki *B. ovis* yaygınlığı % 3,7 olarak tespit edilmiştir. Türkiye’nin Doğu Anadolu Bölgesi’nde yürütölen çalışmada (Altay ve ark, 2007c) ise *B. ovis* yaygınlığının % 5,43 oranında olduğu görölmüştür. İç Anadolu Bölgesi’nin doğusundaki Kayseri, Sivas ve Yozgat illerini kapsayan bir çalışma (İnci ve ark, 2010) sonucunda ise koyun ve keçilerdeki *B. ovis* yaygınlığı % 2,6 şeklinde bulunmuştur. Karadeniz Bölgesi’nde Artvin, Gümüşhane, Giresun ve Tokat illerinde yürütölen bir çalışmada (Altay ve ark, 2012) ise RLB yöntemi ile koyun ve keçilerde her hangi bir *Babesia* türüne

rastlanmamıştır. Yine Karadeniz Bölgesi'nde yedi ili (Bolu, Kastamonu, Çorum, Samsun, Tokat, Giresun, Bayburt) kapsayan bir çalışmada (Aydın ve ark, 2013) koyun ve keçilerdeki *B. ovis* yaygınlığının % 0,44 gibi düşük bir seviyede olduğu tespit edilmiştir. Bir diğer çalışmada (Bilgiç ve ark, 2017a) Ege, Akdeniz, İç Anadolu, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde yer alan 19 ilden toplanan 1727 koyun ve 252 keçiye ait kan örneklerinin RLB ile incelenmesi sonucunda; *B. ovis* (% 0,4), *B. crassa* (% 4) ve *B. motasi* (% 0,1) türleri tespit edilmiştir. Yine bu çalışma (Bilgiç ve ark, 2017a) kapsamında Burdur'dan toplanan örneklerde % 3,65 oranında *B. crassa* ve % 5,84 oranında da her hangi bir türe özgü proba bağlanmayan *Babesia* spp. varlığı saptanmıştır.

Bu çalışmada ise; incelenen 630 küçük ruminant (330 koyun + 300 keçi) kan örneğinde; tekli veya miks enfeksiyon olmasına bakılmaksızın *B. ovis* (% 0,32) ve *B. crassa* (% 0,63) türlerine rastlanmış, ayrıca yine tekli veya miks enfeksiyon olmasına bakılmaksızın örneklerin % 18,57'sinde *Babesia* spp. ve % 6,2'sinde ise *Bm3* (*B. motasi*, *B. crassa*, *B. sp. China*) probu ile hibridizasyon gerçekleşmiştir. Üç örnekte ise 'Theileria/Babesia catch all' probuna bağlanma olurken, herhangi bir türe özgü prob ile hibridizasyon olmadığı görülmüştür. 'Theileria/Babesia catch all' probuna bağlandığı halde, her hangi bir türe özgü proba bağlanmayan ve 'Babesia all' probuna bağlandığı halde her hangi bir *Babesia* türüne özgü proba bağlanmayan tekli enfeksiyon şeklinde olan örneklerin türe özgü PCR ve/veya sekans analizi yardımı ile tür tayinlerinin yapılması gerekmektedir. Yine *Bm3* probuna bağlanan örneklerin *B. crassa*, *B. motasi* veya *B. sp. China* türlerinden biri veya bir kaçı ile enfekte olma ihtimali bulunduğundan bu örneklerin de türe özgü PCR ve/veya sekans analizi yapılarak bu problemlere bağlanan türlerin tespit edilmesi gerekmektedir. Ancak bu çalışma için ayrılan zaman ve maddi imkânların sınırlı oluşu nedeniyle bu fazladan analizlerin ilerleyen zamanlarda yapılarak örneklerdeki türlerin ortaya çıkarılması düşünülmüştür. Yüzde 0,63 (4/630) oranında saptanan *B. crassa* pozitif örnekler içerisinde ise yalnızca bir örnekte (% 0,15) *BcI* (*B. crassa* İran suşu) tespit edilmiş, geri kalan üç (% 0,47) örnek ise *BcG* (*B. crassa* grubu) probuna bağlanmıştır. Bu *BcG* probuna bağlanan örneklerin Türkiye (*BcT*) veya İran (*BcI*) suşlarından hangisini taşıdıkları da bilinmemekte, dolayısıyla bunun için de sekans analizi gerekmektedir. Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı bu örneklerin de sekans analizlerinin ilerleyen zamanlarda yapılması planlanmaktadır. Burada ise *BcI* (bir örnek) ve *BcG* (üç örnek) pozitif örneklerin tamamı suş ayrımı yapılmaksızın *B. crassa* olarak değerlendirmeye alınmıştır. Dolayısıyla bu çalışmada, koyun ve keçilerde parazitlenen *Babesia* türlerinden, tür bazında yalnızca *B. ovis* (% 0,31) ve *B. crassa* (% 0,63) saptanabilmiştir. Yukarıda bahsedilen benzer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırıldığı zaman



bu çalışmada saptanan *B. ovis* yaygınlığı (% 0,31); Kayseri (% 2,7), Kayseri Yeşilhisar (% 3,7), Doğu Anadolu (% 5,43) ve İç Anadolu Bölgesi'nde (% 2,6) yürütülmüş olan çalışmaların sonuçlarına göre daha düşük bir seviyede kalmıştır (İça ve ark, 2005; Saraylı ve ark, 2006; Altay ve ark, 2007c; İnci ve ark, 2010). Karadeniz Bölgesi'nde saptanan *B. ovis* yaygınlığı (% 0 - 0,44) ve Bilgiç ve ark (2017a) tarafından yürütülen çalışmada incelenen tüm koyun ve keçilerdeki toplam *B. ovis* yaygınlığı ile ise uyum içerisinde olduğu görülmektedir (Altay ve ark, 2012; Aydın ve ark, 2013; Bilgiç ve ark, 2017a). Yine bu çalışma sonucu elde edilen *B. crassa* yaygınlığı (% 0,63), Bilgiç ve ark (2017a) tarafından Burdur'da saptanan *B. crassa* yaygınlığına (% 3,65) göre oldukça düşük bir seviyede kalmıştır. Ayrıca yukarıda da bahsedildiği gibi bu çalışmada 39 örneğin (% 6,2) *Bm3* probuna bağlandığı gözlenmiştir. Bu prob *B. motasi*, *B. crassa* ve *Babesia* sp. China türlerine özgüdür. Dolayısıyla bu 39 örneğin sekans analizi yapılması durumunda bu türlerden bir veya bir kaçının da saptanabilme ihtimali bulunmaktadır.

Yine yukarıda bahsedildiği üzere Yukarı ve Umur (2002)'un Burdur yöresinde koyun ve keçilerde enfestasyona yol açan türler arasında rapor ettikleri *R. bursa*'nın hem *B. ovis* hem de *B. motasi*'ye, *R. turanicus*, *I. ricinus* ve *H. excavatum*'un *B. ovis*'e, *Hae. parva*'nın ise *B. crassa*'ya vektörlük yaptıkları bilinmektedir (Levine, 1985; Friedhoff, 1988; Kaufmann, 1996; Rommel, 2000; Aktaş, 2014; Orkun ve ark, 2014; Hornok ve ark, 2015; Taylor ve ark, 2016). Bölgedeki varlıkları tespit edilmiş olan bu türler de, bu çalışma sonucunda bölgede saptanan *B. ovis* ve *B. crassa*'nın varlığını destekler niteliktedir. Benzer şekilde yine *R. bursa*'nın varlığı, bu çalışmada *Bm3* pozitif belirlenmiş olan 39 örnek (% 6,2) içerisinde *B. motasi* ve/veya *B. crassa* bulunabilme ihtimalini de destekler görünmektedir.

Çalışma sonucu tespit edilen türlerden *B. ovis* oldukça patojen olmasına karşın bölgede % 0,31 gibi düşük bir yayılışa sahip olduğu görülmüştür. Benzer olarak apatojen veya düşük patojeniteye sahip olarak bilinen (Hashemi-Fesharki ve Uilenberg, 1981; Friedhoff, 1988; 1997; Rommel, 2000; Taylor ve ark, 2016) *B. crassa* da % 0,63 gibi düşük yüzdeli bir yayılış göstermiştir. Çalışmanın araziden örnek toplama aşaması süresince koyun ve keçi yetiştiricilerinden her hangi bir hastalık şikâyeti gelmemiş olması ve incelenen sürülerde de her hangi bir hayvanda hastalık belirtisi gözlenmemiş olması, yukarıda bahsedilen *B. ovis* ve *B. crassa*'nın patojeniteleri ve bölgede saptanan yaygınlıkları ile uygunluk göstermektedir.

Bu çalışmada diğer bir amaç olarak, omurgalı konak türüne özgü olduğu bilinen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin olası çapraz enfeksiyon durumlarını araştırmak hedeflenmiştir. Diğer bir deyişle bu çalışmada sığırlara özgü türlerin koyun ve keçilerde, koyun ve keçilere

özgü türlerin de sığırlarda parazitlenebilme ihtimali araştırılmıştır. Bu amaçla; Burdur'un Ağlasun, Bucak, Gölhisar, Merkez ve Yeşilova ilçelerinde, ortak veya komşu meralarda otlatılan, dolayısıyla aynı kene türlerinin enfestasyonuna maruz kalabilme ihtimali olduğu düşünülen sığır, koyun ve keçi sürüleri seçilerek bu hayvanlardan kan örnekleri toplanmıştır. Araştırma yöntemi olarak da; çok sayıda örneğin çok sayıda parazit türü bakımından eş zamanlı olarak incelenebilmesine olanak sağlayan RLB tekniğinin (Gubbels ve ark, 1999; Schnittger ve ark, 2004) seçilme sebeplerinden birisi de budur. Hazırlanan membrana sığır, koyun ve keçilerde parazitlenen çeşitli *Theileria* ve *Babesia* türlerine özgü probalar hibridize edilmiş, sonrasında ise tüm örnekler tüm bu parazit türleri yönünden taranmıştır. Bu şekilde türler arası çapraz enfeksiyon durumunun araştırıldığı ve gerçekten tür özgüllüğünün dışına çıkarak çapraz bulaşmaların tespit edildiği çeşitli araştırmalar bulunmaktadır (Criado-Fornelio ve ark, 2003a-b; Sivakumar ve ark, 2013; Elsify ve ark, 2014; Gholami ve ark, 2016).

Bilindiği kadarıyla, *Theileria* ve *Babesia* türlerinin omurgalı konak özgüllüğü yüksek parazitler oldukları kabul edilmektedir. Diğer bir deyişle, hayvan türlerine özgü *Theileria* ve *Babesia* türleri olduğu bilinmektedir. (Soulsby, 1982; Levine, 1985; Norval ve ark, 1992; Preston, 2001; Yukarı, 2004; Uilenberg, 2006; Taylor ve ark, 2016). Bu durumun; parazitin evrimsel gelişim süreci içerisinde son konak olarak yalnızca belirli bir omurgalı konağın vücudunda beslenme, çoğalma gibi yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilme adaptasyonu sağlayabildiği için gerçekleştiği düşünülebilmektedir. Sığır metabolizmasına adapte olup, son konak olarak bu hayvanlarda parazitlenen türlerin koyun ve keçilerde yaşam döngüsünü sürdürememesi, benzer şekilde koyun ve keçilere özgü türlerin de sığırlarda parazitlenememeleri bu duruma örnek gösterilebilmektedir. Geleneksel tanı yöntemleri de parazitlerin tanısında kesin tür ayrımı noktasında yetersiz kaldıkları için, olası çapraz enfeksiyonların tespitine pek olanak sağlayamamaktadırlar. Ancak teknolojinin ilerlemesine paralel olarak nükleik asit tabanlı araştırma yöntemlerinin de geliştirilmesiyle birlikte parazitlerin moleküler düzeyde tür tayinlerinin ve gen dizi analizlerinin yapılmasına olanak sağlanmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda bu parazitlerin bilinen kendi konakları dışında başka konaklarda da tespit edilebildikleri bildirilmiştir (Criado-Fornelio ve ark, 2003a-b; Sivakumar ve ark, 2013; Elsify ve ark, 2014; Gholami ve ark, 2016). Örneğin, ağırlıklı olarak İspanya, ayrıca Portekiz ve Fransa olmak üzere Güney Avrupa'da yürütülmüş olan bir çalışma kapsamında, PCR ile tespit edilen izolatların 18S rRNA geni sekans analizi neticesinde bir atın *B. canis canis*, bir köpeğin *B. equi* ve beş tilkinin ise *T. annae* türleri ile enfekte oldukları tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında, bu hayvan türlerinin bu parazit türleri için yeni

konaklar olabileceği yorumu yapılmıştır (Criado-Fornelio ve ark, 2003a). Yine aynı çalışmada (Criado-Fornelio ve ark, 2003a); Purnel (1981) ile Zahler ve ark (2000)'na atfen köpeklerde parazitlenen *B. gibsoni* ve tek tırnaklılarda parazitlenen *T. equi*'nin morfolojik olarak büyük bir benzerliğe sahip olması nedeniyle muhtemelen daha önce bu çapraz enfeksiyon durumunun saptanamamış olabileceğinden bahsedilmektedir. Ayrıca bu çalışmadaki (Criado-Fornelio ve ark, 2003a) bulguların piroplasmid türlerin ancak moleküler yöntemler yardımıyla doğru bir şekilde tanımlanabileceğinin güçlü bir kanıtı olduğu yorumu da yapılmaktadır. Vietnam'da yürütülmüş olan PCR tabanlı bir diğer benzer araştırmada (Sivakumar ve ark, 2013) ise; bir keçiye ait kan örneğinde *B. bigemina* tespit edilmiş ve bu bulgu sekans analizi ile de doğrulanmıştır. *B. bigemina*'nın AMA-1 (Apical Membrane Antigen) gen sekans analizi sonucu Vietnam'daki sığırlarda da tespit edilen diğer izolatlarla aynı grupta yer aldığı ancak daha fazla geninin tanımlanması ve markerların geliştirilmesi ile *B. bigemina* popülasyonlarındaki genetik çeşitliliğin daha iyi belirlenebileceği yorumu yapılmıştır (Sivakumar ve ark, 2013). Mısır'da yürütülmüş olan bir çalışma (Elsify ve ark, 2014) kapsamında ise sığır, bufalo ve koyunlardan toplanan kan örnekleri *T. annulata*, *T. orientalis*, *B. bovis* ve *B. bigemina* yönünden türe özgü tekli PCR yöntemi yardımıyla incelenmiş, bir koyunda *B. bovis* ve iki koyunda da *B. bigemina* tespit edilmiştir. Sekans analizi neticesinde; *B. bovis*'in RAP-1 (Rhoptri Associated Protein) ve *B. bigemina*'nın AMA-1 (Apical Membrane Antigen) proteini kodlayan genlerinin bu örneklerde sırasıyla % 99,3-100 ve % 95,3-100 gibi yüksek oranlarda korunduğu görülmüştür (Elsify ve ark, 2014). Bu şekilde, parazitlerin konak değiştirmesinin arkasındaki patobiyolojik anlamın bilinmemesine karşın, bunun kan parazitleri tarafından kullanılan bir hayatta kalma stratejisi olabileceği görüşü ortaya atılmıştır (Elsify ve ark, 2014). İran'da ise çoban köpeklerinden toplanan kan örneklerinde PCR ile *Theileria* spp. pozitif bulunan örneklerin 18S rRNA gen sekans analizleri yapılmış ve *T. buffeli*, *T. luwenshuni* ve *T. ovis* türleri tespit edilmiştir (Gholami ve ark, 2016). Ayrıca Nagore ve ark (2004), kendilerine ait yayınlanmamış bir çalışmanın sonuçlarına atfen, *T. ovis*'in RLB yöntemi ile sığırlarda da tespit edilebileceğinden bahsetmişlerdir. Konuyla ilgili bir diğer ilginç bilgi de *T. annulata* ile *T. lestoquardi* arasındaki morfolojik (Brown ve ark, 1998), serolojik (Lemans ve ark, 1999), ortak vektör ve immunojenik makroşizont proteinleri (Namawari ve ark, 2008) ve coğrafi yayılışları (Taha ve ark, 2013) bakımından benzerlikler bulunmasıdır. Ayrıca filogenetik olarak da bu iki tür koyun, keçi ve sığırlarda parazitlenen diğer *Theileria* ve *Babesia* türlerine oranla daha yakın bir akrabalık ilişkisine sahiptir (Schnittger ve ark, 2000a; 2003; Sparagano ve ark, 2006). Her iki etken de kendi omurgalı konaklarında lenfoproliferatif

ve/veya miyeloproliferatif karakterdeki hastalığa sebep olmaktadır ve en azından bir tane ortak vektöre (*H. anatolicum*) sahiptirler. Bu nedenle bazı coğrafi bölgelerde her iki parazite ait ortak bildirimler bulunmaktadır (Leemans ve ark, 1999). Ayrıca antijenik olarak yakından alakalı oldukları düşünülmektedir. Serolojik bir yöntem olan IFAT'da *T. lestoquardi*'nin, *T. annulata* ve *T. parva* ile anlamlı düzeyde çapraz reaksiyon verdiği gözlenmiştir (Leemans ve ark, 1997). Çapraz enfeksiyon oluşturabilme potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada (Brown ve ark, 1998) sığırların *T. lestoquardi* ile enfekte olmadığı, koyun ve keçilerin *T. annulata* ile enfekte olduğu fakat eritrositer formların şekillenmediği görülmüş, aynı çalışmada her iki tür için ortak vektör olan *H. anatolicum*'da hem *T. lestoquardi* hem de *T. annulata*'nın DNA'ları PCR ile tespit edilmiştir. Yine bir başka *in vitro* ve *in vivo* deneysel enfeksiyon çalışmasında (Leemans ve ark, 1999) *T. lestoquardi*'nin sığırdaki enfeksiyon oluşturamamasına karşın, koyunlarda *T. annulata* enfeksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bir diğer moleküler tanı yöntemi olan RLB'nin kullanıldığı çalışmalarda da bu iki tür arasında çapraz reaksiyon şekillendiği bildirilmektedir. *T. lestoquardi*'ye özgü probun *T. annulata* ile çapraz reaksiyon verdiği görülmüştür (Nagore ve ark, 2004; Altay ve ark, 2007b). Bu iki türün genetik yakınlıkları da incelenmiş ve 18S SSU rRNA aşırı değişken (hyper-variable) gen bölgesinde iki baz çiftlik bir farklılık olduğu belirlenmiştir (Mans ve ark, 2011). Bir diğer RLB çalışmasında (El Imam ve Taha, 2015) da aynı şekilde *T. lestoquardi* ve *T. annulata* arasında % 100 oranında bir çapraz reaksiyon şekillenmiş ve bu araştırmacılar bu iki türün ortak atadan evrilmiş olabileceği kararına vardıklarını bildirmişlerdir. Benzer olarak bu tez çalışmasında da RLB analizi sonucunda *T. annulata* ve *T. lestoquardi* çapraz reaksiyon vermiş, *T. annulata* saptanan örneklerin *T. lestoquardi* probuna da bağlandığı gözlenmiştir. Bu çalışmalarda her ne kadar bahsi geçen parazit türlerinin DNA'ları başka konakların kanında tespit edilmiş olsa da, bilindiği kadarıyla bu türlerin kendi konakları dışındaki diğer konaklarda yaşam döngülerini sürdürebildiklerinin ispatlanabildiği her hangi bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla tesadüfi olarak, örneğin vektör kenelerin kan emmelerinin hemen akabinde hayvanlardan alınmış olabilecek kan örneklerinde bu türlerin saptanabilme ihtimali olası görülmektedir.

Yukarıda bahsedildiği gibi parazitlerin kendisine özgü oldukları konak dışında başka hayvan türlerinde bulunabilme olasılığının bulunduğu, bu çalışmada ise kendi konağı dışında parazitlenen bir türe rastlanmadığı görülmüştür. RLB ile incelenen sığır kan örneklerinde *T. annulata* ve *Babesia* spp., koyun ve keçi kan örneklerinde ise *T. ovis*, *B. crassa* (İran) ve *Babesia* spp. türleri saptanmıştır. Ayrıca *B. motasi*, *B. crassa* ve *Babesia* sp. China türlerinin yer aldığı *Bm3* probuna bağlanan örnekler de bulunmaktadır. Benzer şekilde üç adet keçi kan

örneğin ise yalnızca *T/B* catch all probuna bağlandığı halde her hangi bir *Theileria* veya *Babesia* türüne özgü proba hibridize olmadığı görülmüştür. Tür tespiti yapılamayan bu hem sığır hem de koyun ve keçi örneklerinin türe özgü primerler kullanılarak yapılacak PCR ve sekans analizi yardımıyla tür tayinlerinin yapılmasının, hem türlerin bölgedeki yaygınlığına hem de olası çapraz enfeksiyon durumunun anlaşılmasına fayda sağlayabileceği düşünülmektedir.

RLB tekniğiyle real-time PCR ve nested PCR yöntemlerinin *B. bovis* ve *B. bigemina*'nın teşhisindeki etkinliklerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği bir çalışmada (Yıldırım ve ark, 2013); real-time PCR ile pozitif belirlenen 12 örnek RLB testi ile negatif belirlenmiş, 16 örneğin ise *Babesia* spp. düzeyinde pozitiflik verdiği görülürken, tür düzeyinde reaksiyon vermediği saptanmıştır. Bu sonuçlarla RLB testinin real-time PCR testine göre sensitivitesi % 88,8 olarak belirlenmiştir (Yıldırım ve ark, 2013). RLB testinde *Babesia* spp. proba sinyal verdiği halde, *Babesia* tür spesifik problemlerle sinyal alınmamasının, kullanılan problemlerin sensitivitesinin düşük olabileceğini gösterebileceği gibi, membranın yıkanması ve tekrar kullanılması esnasında problemlerin membrandan uzaklaştırılmış olması ile de ilişkili olabileceği yorumu yapılmıştır (Yıldırım ve ark, 2013). Ayrıca, Georges ve ark (2012) tarafından RLB tekniğinin, önce türe özgü olmayan PCR ve sonrasında hibridizasyon olmak üzere iki aşamalı bir sürece sahip olması nedeniyle PCR reaksiyonlarında substrat için kompetisyon ve RLB testi süresince amplifiye DNA için farklı hibridizasyon ısıları gibi çeşitli değişkenlerin her basamakta sensitiviteyi düşürebileceği bildirilmiştir. Çalışmamızda da RLB ile cins düzeyinde pozitifliği saptandığı halde türe özgü her hangi bir proba hibridizasyon gerçekleşmeyen örnekler bulunmaktadır. Yukarıda bahsi geçen bu iki çalışmada (Georges ve ark, 2012; Yıldırım ve ark, 2013) RLB tekniğinin sensitivitesi ile ilgili yapılan yorumlar bu sonuçları destekler niteliktedir. Bununla birlikte, saptanan türlerin kendi konaklarında tespit edilen enfeksiyon oranlarının bile oldukça düşük seviyelerde kaldığı görülmüştür. İstisna olarak bu duruma uymayan tek tür *T. ovis* olmuştur. Tekli veya miks enfeksiyon şeklinde olmasına bakılmaksızın, *T. ovis*'in koyunlardaki görülme oranı % 79,69, keçilerde % 0,3 ve tüm küçük ruminantlarda ise % 41,9 şeklinde hesaplanmıştır. Saptanan diğer türlerde ise enfeksiyon yüzdelerinin çok düşük seviyelerde seyrettiği fark edilmiş, normal konak enfeksiyonlarının bile yok denilecek kadar az görüldüğü böyle sürülerde çapraz enfeksiyonların görülmemesinin oldukça normal kabul edilebileceği kanısına varılmıştır. Gelecekte bölgede yapılması planlanan çalışmalar dahilinde toplanacak kene ve kan örneklerinin tür spesifik PCR yanında nested-PCR ve real-time PCR ile de incelenmesinin daha doğru sonuçlar elde etmek için faydalı olacağı kanısına varılmıştır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında Burdur yöresi sığır, koyun ve keçilerinde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin RLB yöntemi kullanılarak moleküler düzeyde varlıkları, yaygınlıkları ve türler arası olası çapraz enfeksiyon durumları araştırılmıştır.

Çalışmada; 330 adet koyun kan örneğinin 153'ü (% 46,3) *T. ovis*, 106'sı (% 32,1) *T. ovis* + *Babesia* spp., ikisi (% 0,6) *Bm3* (*B. crassa*/*B. motasi*/ *Babesia* sp. China) + *BcG* (*B. crassa* Türkiye/*B. crassa* İran), ikisi (% 0,6) *T. ovis* + *Bm3*, biri (% 0,3) *Babesia* spp., biri (% 0,3) *T. ovis* + *Bm3* + *BcG*, biri (% 0,3) *T. ovis* + *Bm3* + *BcI* (*B. crassa* İran) ve 64'ü (% 19,4) negatif olarak tespit edilmiştir. Tekli veya miks enfeksiyon olmasına bakılmaksızın *T. ovis*'in koyunlardaki yaygınlığı % 79,69 olarak belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil toplam 300 keçi kan örneğinin 33'ü (% 11) *Bm3*, 10'u (% 3,3) *Babesia* spp., üçü (% 1) *Theileria/Babesia* spp., ikisi (% 0,6) *B. ovis*, biri (% 0,3) *T. ovis* ve 206 tanesi (% 62,4) ise negatif bulunmuştur.

Araştırmada incelenen 334 sığır kan örneği içerisinde en yoğun karşılaşılan iki enfeksiyon, *B. bovis* (% 3,3; 11/334) ve *Babesia* spp. (% 3,3; 11/334) enfeksiyonları olmuştur. Bunu bir sığırdaki (% 0,3) *T. annulata* ve yine bir başka sığırdaki (% 0,3) *T. annulata* + *Babesia* spp. enfeksiyonları izlemiş ve incelenen sığırların % 92,8 (310/334)'lik bir kısmı ise RLB analizleri sonucunda *Theileria* veya *Babesia* enfeksiyonları yönünden negatif bulunmuştur. Tekli veya miks enfeksiyon şeklinde olmasına bakılmaksızın *T. annulata*'nın yaygınlığı % 0,6 olarak tespit edilmiştir.

Çalışmada incelenen 330 koyunun 154'ü (% 46,6) tek türle, 110'u (% 33,3) iki türle, ikisi (% 0,6) üç türle, 300 keçinin 49'u (% 16,3) tek türle, 334 sığırın 23'ü (% 6,9) tek türle ve biri (% 0,3) de iki türle enfekte olarak tespit edilirken keçilerde ikili ve üçlü, sığırlarda da üçlü enfeksiyona rastlanmamıştır.

Bu verilere göre; incelenen sığırlar ile koyun ve keçiler arasında çapraz bir enfeksiyon durumuna rastlanılmadığı görülmektedir. Ancak; tüm *Theileria/Babesia* türlerine özgü 'TB catch all' veya tüm *Babesia* türlerine özgü 'Babesia all' problemlerine bağlandığı halde her hangi bir *Theileria* veya *Babesia* türüne özgü proba bağlanmayan ve türü belirlenemeyen bazı örnekler bulunmaktadır. Bu örneklerdeki türlerin tayinlerinin yapılabilmesi için, RLB yönteminin türe özgü PCR, real-time PCR, nested PCR ve sekans analizi yöntemleri ile desteklenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca enfeksiyon oranlarının bu kadar

düşük seviyelerde seyrettiği sürülerde hayvan türleri arasında çapraz bir enfeksiyon beklemenin de çok doğru olmadığı kanısına varılmıştır.

Burdur yöresinde; daha önce Tanyüksel ve ark (2002) tarafından PCR ile sığır *Babesia* türleri ve Bilgiç ve ark (2017a) tarafından da PCR ve RLB ile koyun ve keçilerde *Theileria/Babesia* ve *Ehrlichia/Anaplasma* türlerinin araştırıldığı moleküler düzeyde çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışma kapsamında ise Burdur yöresinde hem sığır hem de koyun ve keçilerdeki *Theileria* ve *Babesia* türlerinin varlıkları, yaygınlıkları ve türler arası çapraz enfeksiyon durumları RLB ile ilk kez bu kadar geniş kapsamlı olarak araştırılmıştır. Bu çalışma sığırlar ile koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin çapraz enfeksiyon durumlarının RLB ile araştırıldığı ilk çalışma olmuş, ancak incelenen örneklerde her hangi bir çapraz bulaşma tespit edilememiştir.

Bu çalışma sonucunda sığır, koyun ve keçilerde parazitlenen *Theileria* ve *Babesia* türlerinin Burdur yöresindeki yaygınlıkları ile ilgili elde edilmiş verilerin ülkemiz bilgi birikimine ve bölgedeki parazit faunasına katkı sağlaması yanında, gelecekte bölgede yürütülmesi planlanan konuyla ilgili benzer çalışmalar için altyapı oluşturacağı düşünülmüştür. Yine elde edilen sonuçların sığır, koyun ve keçi sağlığının korunmasına yararlı olacağı, bu veriler ışığında bilgilendirilen saha veteriner hekimlerinin yeni yaklaşımlar gösterebileceği kanaatine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

**Abd-Elmalek BS, Abed GH, Mandour AM.** *Babesia cameli* as a new species infecting camels (*Camelus dromedarius*) at Assiut Locality. *Journal of Diabetes & Metabolism* 2016, 7(9), 1-4.

**Abdigoudarzi M.** Detection of naturally infected vector ticks (Acari: Ixodidae) by different species of *Babesia* and *Theileria* agents from three different enzootic parts of Iran. *Journal of Arthropod Borne Diseases* 2013, 7, 164-172.

**Abdo J, Kristersson T, Seitzer U, Renneker S, Merza M, Ahmed J.** Development and laboratory evaluation of a lateral flow device (LFD) for the serodiagnosis of *Theileria annulata* infection. *Parasitology Research* 2010, 107, 1241-1248.

**Abdullah SH, Mohammed AA.** Babesiosis of small ruminants in Sulaimani city Kurdistan - Iraq. *AL-Qadisiya Journal of Veterinary Medicine Sciences* 2014, 13(2), 39-43.

**Abravanel Samuel, M. Raif.** Koyun piroplazmozuna karşı aşı Türkiye' de piroplazmozlar ve beygir piroplazmozunu. Milliyet Matbaası, İstanbul, 1930.

**Adam KMG, Blewett DA.** Experimental infection of mice with *Babesia divergens*. *Journal of Protozoology* 1974, 21, 448.

**Ahmed JS, Luo J, Schnittger L, Seitzer U, Jongejan F, Yin H.** Phylogenetic position of small-ruminant infecting piroplasms. *Annals of New York Academy of Sciences* 2006, 1081, 498-504.

**Akdemir C.** Van yöresi koyunlarında bulunan kene türlerinin (fam: ixodidae) tespiti ve epidemiyolojisi üzerine araştırmalar. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2001.

**Aksulu A.** *Theileria annulata*'ya karşı aşılanan hayvanlarda aşının koruyuculuğu etkinliğinin genotipik düzeyde belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2015.

**Aktaş M, Çakmak A.** Malatya yöresinde tropikal theileriosisin epidemiyolojisi. *Veteriner Bilimleri Dergisi* 2001, 17 (2), 19-22.

**Aktaş M, Dumanlı N.** Malatya yöresinde *Hyalomma* soyuna bağlı kene türlerinde doğal *Theileria annulata* enfeksiyonları. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2001, 25, 119-124.

**Aktaş M, Sevgili M, Dumanlı N.** Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde *Theileria annulata*'nın seroprevalansı. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences* 2001a, 25, 359-363.



**Aktaş M, Dumanlı N, Karaer Z, Çakmak A, Sevgili M.** Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde sığırlarda *Babesia* türlerinin sero-prevalansı. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences* 2001b, 25, 447-451.

**Aktaş M, Düzgün A, Babür C.** Malatya yöresinde koyunlarda *Babesia ovis*'in seroprevalansı. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2001c, 25, 241-243.

**Aktaş M, Dumanlı N, Angın M.** Cattle infestation by *Hyalomma* ticks and prevalence of *Theileria* in *Hyalomma* species in the east of Turkey. *Veterinary Parasitology* 2004, 119, 1-8.

**Aktaş M, Dumanlı N, Altay K.** Elazığ yöresinde koyun ve keçilerde *Theileria ovis*'in polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2005a, 29(1), 17-21.

**Aktaş M, Altay K, Dumanlı N.** Development of polymerase chain reaction method for diagnosis of *Babesia ovis* infection in sheep and goats. *Veterinary Parasitology* 2005b, 133, 277-281.

**Aktaş M, Altay K, Dumanlı N.** A molecular survey of bovine *Theileria* parasites among apparently healthy cattle and with a note on the distribution of ticks in eastern Turkey. *Veterinary Parasitology* 2006, 138, 179-185.

**Aktaş M, Altay K, Dumanlı N.** Determination of prevalence and risk factors for infection with *Babesia ovis* in small ruminants from Turkey by polymerase chain reaction. *Parasitology Research* 2007, 100, 797-802.

**Aktaş M, Altay K, Özübek S, Dumanlı N.** A survey of ixodid ticks feeding on cattle and prevalence of tick-borne pathogens in the Black Sea region of Turkey. *Veterinary Parasitology* 2012, 187, 567-571.

**Aktaş M.** A survey of ixodid tick species and molecular identification of tick-borne pathogens. *Veterinary Parasitology* 2014, 200 (3-4), 276-283.

**Aktaş M, Özübek S.** Molecular and parasitological survey of bovine piroplasms in the Black Sea Region, including the first report of babesiosis associated with *Babesia divergens* in Turkey. *Journal of Medical Entomology* 2015, 52(6), 1344-1350.

**Alani AJ, Herbert IV.** Morphology and transmission of *Theileria recondita* (Theileriidae: Sporozoa) isolated from *Haemaphysalis punctata* from north Wales. *Veterinary Parasitology* 1988a, 28, 283-291.

**Alani AJ, Herbert IV.** Pathogenesis of infection with *Theileria recondita* (Wales) isolated from *Haemaphysalis punctata* from North Wales. *Veterinary Parasitology* 1988b, 28, 293-301.

**Alhassan A, Pumidonming W, Okamura M, Hirata H, Battsetseg B, Fujisaki K, Yokoyama N, Igarashi I.** Development of a single-round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in horse blood. *Veterinary Parasitology* 2005, 129(1-2), 43-49.

**Alhassan A, Govind Y, Tam NT, Thekisoie OM, Yokoyama N, Inoue N, Igarashi I.** Comparative evaluation of the sensitivity of LAMP, PCR and in vitro culture methods for the diagnosis of equine piroplasmosis. *Parasitology Research* 2007a, 100(5), 1165-1168.

**Alhassan A, Thekisoie OM, Yokoyama N, Inoue N, Motloang MY, Mbat PA, Yin H, Katayama Y, Anzai T, Sugimoto C, Igarashi I.** Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for diagnosis of equine piroplasmosis. *Veterinary Parasitology* 2007b, 143, 155-160.

**Allsopp BA, Baylis HA, Allsopp MT, Cavalier-Smith T, Bishop RP, Carrington DM, Sohanpal B, Spooner P.** Discrimination between six species of *Theileria* using oligonucleotide probes which detect small subunit ribosomal RNA sequences. *Parasitology* 1993, 107, 157-165.

**Almeria S, Castella J, Ferrer D, Ortuno A, Estrada-Peña A, Gutierrez JF.** Bovine piroplasms in Minorca (Balearic Islands, Spain): a comparison of PCR-based and light microscopy detection. *Veterinary Parasitology* 2001, 99, 249-259.

**Almeria S, Castella J, Ferrer D, Gutierrez JF, Estrada-Pena A, Sparagano O.** Reverse line blot hybridization used to identify hemoprotozoa in Minorcan cattle. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2002, 969, 78-82.

**Alp H.** İstanbul ili sığırlarında tropikal theileriosisin yaygınlığı ve yayılma oranının belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı, Doktora tezi, 1995.

**Alp HG, Güvenen AR.** Tekirdağ ilinde *Theileria annulata* ve *Babesia bovis* infeksiyonlarının seroprevalansı. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 2001, 32, 1-2.

**Altay K, Aktaş M.** Sığır Theileriosisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004, 18(2), 79-86.

**Altay K, Dumanlı N, Holman PJ, Aktaş M.** Detection of *Theileria ovis* in naturally infected sheep by nested PCR. *Veterinary Parasitology* 2005, 127, 99-104.

**Altay K, Aktaş M, Dumanlı N.** Erzincan yöresinde sığırlarda *Theileria annulata* ve *Theileria buffeli/orientalis*'in reverse line blotting yöntemi ile araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2007a, 31, 94-97.

**Altay K, Aktaş M, Dumanlı N.** *Theileria* infections in small ruminants in the East and Southeast Anatolia. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2007b, 31(4), 268-271.

**Altay K, Dumanlı N, Aktaş M.** Molecular identification, genetic diversity and distribution of *Theileria* and *Babesia* species infecting small ruminants. *Veterinary Parasitology* 2007c, 147, 161-165.

**Altay K, Aktas M, Dumanli N, Aydın MF.** Evaluation of a PCR and comparison with RLB for detection and differentiation of *Theileria* sp. MK and other *Theileria* and *Babesia* species of small ruminants. *Parasitology Research* 2008a, 103, 319-323.

**Altay K, Aydın MF, Dumanlı N, Aktaş M.** Molecular detection of *Theileria* and *Babesia* infections in cattle. *Veterinary Parasitology* 2008b, 158, 295-301.

**Altay K, Aydın MH, Uluşık U, Aktaş M, Dumanlı N.** *Theileria annulata* ve *Theileria buffeli*'nin teşhisinde multiplex PCR'in kullanılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2008c, 32(1), 1-3.

**Altay K, Dumanlı N, Aktaş M.** A study on ovine tick-borne hemoprotozoan parasites (*Theileria* and *Babesia*) in the East Black Sea Region of Turkey. *Parasitology Research* 2012, 111(1),149-153.

**Angus B.** The history of the cattle tick *Boophilus microplus* in Australia and achievements in its control. *International Journal of Parasitology* 1996, 26, 1341-1355.

**Anonim.** Nomenclature in *Theileria*. In: Theileriosis in Eastern, Central and Southern Africa. Proceedings of a Workshop on East Coast Fever Immunization Held in Lilongwe, Malawi, 20-22 Eylül 1988, Dolan TT (ed), International Laboratory for Research on Animal Diseases, s182-186, Nairobi, 1989.

**Arai S, Tsuji M, Kim SJ, Nakada K, Kirisawa R, Ohta M, Ishihara C.** Antigenic and genetic diversities of *Babesia ovata* in persistently infected cattle. *Journal of Veterinary Medical Science* 1998, 60(12),1321-1327.

**Arserim NB, Mete Ö.** Diyarbakır ve yöresi ruminantlarında görülen İxodidae'ların mevsimsel etkinliği. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012, 23(1), 5-9.

**Arslan MO, Umur Ş, Aydın L.** The prevalence of Ixodidae species on cattle in Kars province of Turkey. *Acta Parasitologica Turcica* 1999, 23(3), 331-335.

**Aydın L, Bakırcı S.** Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitology Research* 2007, 101(2), 163-166.

**Aydın MF, Aktaş M, Dumanlı N.** Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'ndeki koyun ve keçilerde kene enfestasyonları. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012, 18, 17-22.

**Aydın MF, Aktaş M, Dumanlı N.** Molecular identification of *Theileria* and *Babesia* in ticks collected from sheep and goats in the Black Sea region of Turkey. *Parasitology Research* 2013, 114(1), 65-69.

**Aysoy S.** Tıbbi Klinik Klavuzu. Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Matbaası Talebe Ders Kılavuzu 24, 1941.

**Aysul N, Karagenc T, Eren H, Aypak S, Bakırcı S.** Aydın ili sığırlarında tropikal theileriosisün yaygınlığı ve *Theileria annulata* şizont aşısının sahada etkinliğinin değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2008, 32(4), 322-327.

**Babes V.** Sur l' hémoglobinurie bactérienne du boeuf. . *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* 1888, 107, 692-694.

**Bai Q, Liu GY, Yin H, Zhao QZ, Liu DK, Ren JX, Li X.** *Theileria sinensis* sp nov: a new species of Bovine *Theileria*—classical taxonomic studies. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica* 2002a, 33, 73–77.

**Bai Q, Liu GY, Yin H, Zhao QZ, Liu DK, Ren JX, Li X.** *Theileria sinensis* sp nov: a new species of Bovine *Theileria*—molecular taxonomic studies. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica* 2002b, 33, 185–190.

**Bai Q, Liu G, Liu D, Ren J, Li X.** Isolation and preliminary characterization of a large *Babesia* sp. from sheep and goats in the eastern part of Gansu Province, China. *Parasitology Research*, 2002c, 88, 16-21.

**Bakheit MA, Latif AA.** The innate resistance of Kenana cattle to tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) in the Sudan. *Annals of New York Academy of Science* 2002, 969, 159-163.

**Bakırcı S, Sarali H, Aydın L, Latif A, Eren H, Karagenc T.** *Hyalomma rufipes* (Koch, 1844) infesting cattle in the West Aegean region of Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2011, 35(5), 359-363.

**Bakırcı S, Sarali H, Aydın L, Eren H, Karagenc T.** Distribution and seasonal activity of tick species on cattle in the West Aegean region of Turkey. *Experimental Applied Acarology* 2012, 56(2), 165-178.

**Bakırcı S, Aysul N, Eren H, Ünlü AH, Karagenc T.** Diversity of ticks biting humans in Aydın province of Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2014, 61, 93-98.

**Barnett SF.** The biological races of the bovine *Theileria* and their host-parasite relationship. In: Garnham PCC, Pierce AE, Roitt I (eds). Immunity to protozoa. A Symposium of British Society for Immunology. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1963, 180-195.

**Barnett SF.** *Theileria* In Parasitic Protozoa. Kreier JP (ed), Academic Press, New York, 1977, 77-113.

**Basagoudanavar SH, Rao JR, Singh RK, Butchaiah G.** Random amplification of polymorphic DNA finger printing of *Trypanosoma evansi*. *Veterinary Research Communications* 1998, 23, 249-255.

**Bekker CP, de Vos S, Taoufik A, Sparagano OA, Jongejan F.** Simultaneous detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ruminants and detection of *Ehrlichia ruminantium* in *Amblyomma variegatum* ticks by reverse line blot hybridization. *Veterinary Microbiology* 2002, 89(2-3), 223-238.

**Ben Miled L, Dellagi K, Bernard G, Melrose TR, Darghouth M, Bouattour A, Kinnaird J, Shiels B, Tait A, Brown CGD.** Genomic and phenotypic diversity of Tunisian *Theileria annulata* isolates. *Parasitology* 1994, 108(1), 51-60.

**Ben Said M, Galai Y, Mhadhbi M, Jedidi M, de la Fuente J, Darghouth MA.** Molecular characterization of Bm86 gene orthologs from *Hyalomma excavatum*, *Hyalomma dromedarii* and *Hyalomma marginatum marginatum* and comparison with a vaccine candidate from *Hyalomma scupense*. *Veterinary Parasitology* 2012, 190(1-2), 230-240.

**Bidwell DE, Turp P, Joyner LP, Payne RC, Purnell RE.** Comparisons of serological tests for *Babesia* in British cattle. *Veterinary Record* 1978, 103, 446-449.

**Bilgiç HB.** *Theileria annulata*'nın tanısında serolojik (indirekt ELISA) ve moleküler (PZR, çoklu PZR ve LAMP) yöntemlerin geliştirilmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2010.

**Bilgiç HB, Karagenç T, Shiels B, Tait A, Eren H, Weir W.** Evaluation of cytochrome b as a sensitive target for PCR based detection of *T. annulata* carrier animals. *Veterinary Parasitology* 2010, 174(3-4), 341-347.

**Bilgiç HB, Karagenç T, Simuunza M, Shiels B, Tait A, Eren H, Weir W.** Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Theileria annulata*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in cattle. *Experimental Parasitology* 2013, 133(2), 222-229.

**Bilgiç HB, Bakırcı S, Köse O, Ünlü AH, Hacılarhoğlu S, Eren H, Weir W, Karagenç T.** Prevalence of tick-borne haemoparasites in small ruminants in Turkey and diagnostic sensitivity of single-PCR and RLB. *Parasites and Vectors* 2017a, 10(211), 1-13.

**Bilgiç HB, Ünlü AH, Aksulu A, Bakırcı S, Hacılarhoğlu S, Eren H, Weir W, Karagenç T.** Rekombinasyon sonrası *Theileria annulata* popülasyonlarında genetik çeşitliliğin belirlenmesinde kullanılacak markerlerin seçimi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2017b, 41, 9-18.

**Bilgin Z.** Trakya'da Sığırlarda Bulunan *Theileria* ve *Babesia* türlerinin ve bunların sığırlarda yaygınlığının Reverse Line Blotting (RLB) tekniği ile araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2007, 66-82.

**Bishop RP, Spooner PR, Kanhai GK, Kiarie J, Latif AA, Hove T, Masaka S, Dolan TT.** Molecular characterization of *Theileria* parasites: application to the epidemiology of theileriosis in Zimbabwe. *Parasitology* 1994, 109(5), 573-581.

**Bishop R, Geysen D, Skilton R, Odongo D, Nene V, Allsopp B, Mbogo S, Spooner P, Morzaria S.** Genomic polymorphism, sexual recombination and molecular epidemiology of *Theileria parva*. In: Dobbelaere DAE, McKeever DJ (eds.), World Class Parasites (3), *Theileria*. Kluwer Academic Publishers, London 2002, 23-41.

**Bishop R, Musoke A, Morzaria S, Gardner M, Nene V.** *Theileria*: intracellular protozoan parasites of wild and domestic ruminants transmitted by ixodid ticks. *Parasitology* 2004, 129, 271-283.

**Bishop R, Musoke A, Skilton R, Morzaria S, Gardner M, Nene V.** *Theileria*: life cycle stages associated with the ixodid tick vector. In: Bowman AS, Nuttall PA (eds), Ticks. Cambridge University Press, UK, 2008, 308-324.

**Bock RE, de Vos AJ, Lew A, Kingston TG, Fraser IR.** Studies on failure of T strain live *Babesia bovis* vaccine. *Australian Veterinary Journal* 1995, 72(8), 296-300.

**Bock RE, Devos AJ, Rayner AC, Lehmann W, Singh S, Molloy JB.** Assessment of the risk of tick fever mortalities in north-western Queensland beef industry, Challenging the Boundaries, Proceedings of Annual Conference, Australian Association of Cattle Veterinarians. *Australian Veterinary Association* 1997, 175-182.

**Bock RE, Kingston TG, Standfast NF, De Vos AJ.** Effect of cattle breed on innate resistance to inoculations of *Babesia bigemina*. *Australian Veterinary Journal* 1999, 77, 465-466.

**Bock R, Jackson L, de Vos A, Jorgensen W.** Babesiosis of cattle. *Parasitology* 2004, 129, 247-269.

**Bock RE, Jackson LA, De Vos AJ, Jorgensen WK.** Babesiosis of cattle. In: Bowman AS, Nuttall PA (eds), Ticks Biology, Disease and Control, Cambridge University Press, 2008, 281-308.

**Boonchit S, Xuan X, Yokoyama N, Goff WL, Wagner G, Igarashi I.** Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant rhoptry-associated protein 1 antigen against *Babesia bovis* for the detection of specific antibodies in cattle. *Journal of Clinical Microbiology* 2002, 40(10), 3771-3775.

**Boreham PF, Wright IG.** The release of pharmacologically active substances in parasitic infections. *Progress in Medicinal Chemistry* 1976, 13, 159-204.

**Boulter N, Hall R.** Immunity and vaccine development in the bovine theilerioses. *Advances in Parasitology* 1999, 44, 41-97.

**Böse R, Jacobson RH, Gale KR, Waltisbuhl DJ, Wright IG.** An improved ELISA for the detection of antibodies against *Babesia bovis* using either a native or a recombinant *B. bovis* antigen. *Parasitology Research* 1990, 76(8), 648-652.

**Böse R, Jorgensen WK, Dalglish RJ, Friedhoff KT, de Vos AJ.** Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. *Veterinary Parasitology* 1995, 57, 61-74.

**Brocklesby D.** Human babesiosis. *Journal of South African Veterinary Association* 1979, 50, 302-307.

**Brocklesby DW.** *Cytauxzoon taurotragi* Martin and Brocklesby, 1960, a piroplasm of eland (*Taurotragus oryx pattersonianus* Lydekker, 1906). *Research in Veterinary Science* 1962, 3,334-344.

**Brocklesby DW.** Recent observations on piroplasmosis of cattle in the United Kingdom. *Bulletin de l'Office International des Epizooties* 1976, 86, 19-26.

**Brown CGD.** Theileriidae. In: Taylor ER, Baker JR (eds), *In vitro* methods of parasite cultivation. Academic Press, London, 1987, 230-251.

**Brown CG.** Control of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) of cattle. *Parassitologia* 1990, 32(1), 23-31.

**Brown CGD, Hunter AG, Luckins AG.** Diseases caused by protozoa. In: Sewell MMH, Brocklesby DW (eds.), *Handbook on Animal Diseases in the Tropics*, 4th Ed., Baillière Tindall, London 1990, s161-226.

**Brown CGD, İlhan T, Kirvar E, Thomas M, Wilkie G, Leemans L, Hooshmand-Rad P.** *Theileria lestoquardi* and *T. annulata* in Cattle, Sheep, and Goats. *In Vitro and in Vivo Studies. Annals of the New York Academy of Science* 1998, 849, 44-51.

**Brown WC, Ruef BJ, Norimine J, Kegerreis KA, Suarez CE, Conley PG, Stich RW, Carson KH, Rice-Ficht.** A novel 20-kilodalton protein conserved in *Babesia bovis* and *B. bigemina* stimulates memory CD4(+) T lymphocyte responses in *B. bovis* immune cattle. *Molecular and Biochemical Parasitology* 2001, 118, 97-109.

**Brown WC, Norimine J, Goff WL, Suarez CE, McElwain TF.** Prospects for recombinant vaccines against *Babesia bovis* and related parasites. *Parasite Immunology* 2006, 28(7), 315-327.

**Buening GM, Barbet A, Myler P, Mahan S, Nene V, McGuire TC.** Characterization of a repetitive DNA probe for *Babesia bigemina*. *Veterinary Parasitology* 1990, 36(1-2), 11-20.

**Buling A, Criado-Fornelio A, Asenzo G, Benitez D, Barba-Carretero JC, Florin-Christensen M.** A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *Babesia bovis* and *B. bigemina*. *Veterinary Parasitology* 2007, 147(1-2), 16-25.

**Burridge MJ, Kimber CD.** Duration of serological response to the indirect fluorescent antibody test of cattle recovered from *Theileria parva* infection. *Research in Veterinary Sciences* 1973, 14, 270-271.

**Burridge MJ, Kimber CD, McHardy N.** Detection of antibodies to *Babesia bigemina* in dried blood samples using the indirect fluorescent antibody test. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 1973, 67(2), 191-195.

**Callow LL, Hoyte HMD.** Transmission experiments using *Babesia bigemina*, *Theileria mutans*, *Borrelia sp.* and the tick cattle *Boophilus microplus*. *Australian Veterinary Journal* 1961, 37, 381-390.

**Callow LL.** Piroplasms, Animal Health in Australia. *Protozoal and Rickettsial Diseases* 1984, 121-160.

**Callow LL.** Some aspects of the epidemiology and control of bovine babesiosis in Australia. *Journal of the South African Veterinary Association* 1979, 50, 353-356.

**Callow LL, Rogers RJ, de Vos AJ.** Tick-borne diseases: cattle pathology and serology. In: Corner LA, Bagust TJ (eds). *Australian Standard Diagnostic Techniques for Animal Diseases*, East Melbourne, CSIRO Information Services, 1993, 1-16.

**Callow LL, Dalgliesh RJ, de Vos AJ.** Development of effective living vaccines against bovine babesiosis – the longest field trial? *International Journal for Parasitology* 1997, 27, 747-767.

**Campbell JD, Brown DJ, Glass EJ, Hall FR, Spooner RL.** *Theileria annulata* sporozoite targets. *Parasite Immunology* 1994, 16, 501-505.

**Campbell JD, Brown DJ, Nichani AK, Howie SE, Spooner RL, Glass EJ.** A non-protective T helper 1 response against the intra-macrophage protozoan *Theileria annulata*. *Clinical and Experimental Immunology* 1997, 108(3), 463-470.

**Canales M, Enriquez A, Ramos E, Cabrera D, Dandie H, Soto A, Falcón V, Rodriguez M, de la Fuente J.** Large-scale production in *Pichia pastoris* of the recombinant vaccine Gavac against cattle tick. *Vaccine* 1997, 15(4), 414-422.



**Canning EU, Killick-Kendrick R, and Monk JB.** Morphology of piroplasms in abnormal hosts and the identification of piroplasms of humans. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1976, 79, 5-8.

**Carson CA, Timms P, Cowman AF, Stewart NP.** *Babesia bovis*: Evidence for selection of subpopulations during attenuation. *Experimental Parasitology* 1990, 70, 404-410.

**Cavalier-Smith T.** Kingdom protozoa and its 18 phyla. *Microbiological Reviews* 1993, 57, 953-994.

**Celep A.** Orta Karadeniz bölgesinde sığırlarda görülen kan parazitleri ve vektörleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Enstitüsü Dergisi* 1981, 5, 1-3.

**Centeno-Lima S, do Rosário V, Parreira R, Maia AJ, Freudenthal AM, Nijhof AM, Jongejan F.** A fatal case of human babesiosis in Portugal: molecular and phylogenetic analysis. *Tropical Medicine and International Health* 2003, 8, 760-764.

**Chansiri K, Kawazu S, Kamio T, Terada Y, Fujisaki K, Philippe H, Sarataphan N.** Molecular phylogenetic studies on *Theileria* parasites based on small subunit ribosomal RNA gene sequences. *Veterinary Parasitology* 1999, 83, 99-105.

**Chansiri K, Kawazu S, Kamio T, Terada Y, Fujisaki K, Philippe H, Sarataphan N.** Molecular phylogenetic studies on *Theileria* parasites based on small subunit ribosomal RNA gene sequences. *Veterinary Parasitology* 1999, 83, 99-105.

**Chansiri K, Khuchareontaworn S, Sarataphan N.** PCR-ELISA for diagnosis of *Trypanosoma evansi* in animals and vector. *Molecular and Cellular Probes* 2002, 16, 173-177.

**Chen PP, Conrad PA, Ole-MoiYoi OK, Brown WC, Dolan TT.** DNA probes detect *Theileria parva* in the salivary glands of *Rhipicephalus appendiculatus* ticks. *Parasitology Research* 1991, 77(7), 590-594.

**Chiang PW, Song WJ, Wu KY, Korenberg JR, Fogel EJ, Van Keuren ML, Lashkari D, Kurnit DM.** Use of a fluorescent-PCR reaction to detect genomic sequence copy number and transcriptional abundance. *Genome Research* 1996, 6(10), 1013-1026.

**Cho SH, Kim TS, Lee HW, Tsuji M, Ishihara C, Kim JT, Wee SH, Lee CG.** Identification of newly isolated *Babesia* parasites from cattle in Korea by using the Bo-RBC-SCID mice. *The Korean Society for Parasitology* 2002, 40(1), 33-40.

**Chauvin A, Valentin A, Malandrin L, L'Hostis M.** Sheep as a new experimental host for *Babesia divergens*. *Veterinary Research* 2002, 33, 429-433.

**Clark IA, Allison AC.** *Babesia microti* and *Plasmodium berghei yoelii* infections in nude mice. *Nature* 1974, 252(5481), 328-329.

**Clark IA.** Does endotoxin cause both the disease and parasite death in acute malaria and babesiosis? *Lancet* 1978, 2(8080), 75-77.

**Colwell DD, Dantas-Torres F, Otranto D.** Vector-borne parasitic zoonoses: Emerging scenarios and new perspectives. *Veterinary Parasitology* 2011, 182, 14-21.

**Conrad PA, Thomford JW, Marsh A, Telford SR 3rd, Anderson JF, Spielman A, Sabin EA, Yamane I, Persing DH.** Ribosomal DNA probe for differentiation of *Babesia microti* and *B. gibsoni* isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 1992, 30(5), 1210-1215.

**Conrad PA, Kjemtrup AM, Carreno RA, Thomford J, Wainwright K, Eberhard M, Quick R, Telford III SR, Herwaldt BL.** Description of *Babesia duncani* n.sp. (Apicomplexa: Babesiidae) from humans and its differentiation from other piroplasms. *International Journal for Parasitology* 2006, 36, 779-789.

**Cooke BM, Mohandas N, Cowman AF, Coppel RL.** Cellular adhesive phenomena in apicomplexan parasites of red blood cells. *Veterinary Parasitology* 2005, 132(3-4), 273-295.

**Criado-Fornelio A, Martinez-Marcos A, Buling-Saraña A, Barba-Carretero JC.** Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe. Part I. Epizootiological aspects. *Veterinary Parasitology* 2003a, 13, 189-201.

**Criado-Fornelio A, Martinez-Marcos A, Buling-Saraña A, Barba-Carretero JC.** Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe. Part II. Phylogenetic analysis and evolutionary history. *Veterinary Parasitology* 2003b, 114, 173-194.

**Criado-Fornelio A.** A review of nucleic acid-based diagnostic tests for *Babesia* and *Theileria*, with emphasis on bovine piroplasms. *Parassitologia* 2007, 49(1), 39-44.

**Çakmak A.** Untersuchungen zur Inzidenz von Hamoparasiten in einer Rinderherde in der Provinz Ankara. Tierärztl. Hochsch., Diss., Hannover, 1987.

**Çakmak A, Öz İ.** Adana yöresi sığırlarında kan protozoonlarının serodiagnozu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1993, 40 (1), 70-77.

**Çiçek H, Düzgün A, Emre Z, Karaer Z.** Seroprevalance of *Babesia ovis* in around Afyon. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2004, 28, 683-686.

**Çiçek H, Çiçek H, Eser M, Tandoğan M.** Current status of ruminant theileriosis and its economical impact in Turkey. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2009, 33 (4), 273-279.

**Dalgliesh RJ.** Babesiosis. In: Warren KS (ed). *Immunology and Molecular Biology of Parasitic Infections*. Blackwell Publishing Oxford, 1993, 352-383.

- Darghouth ME, Bouattour A, Ben Miled L, Sassi L.** Diagnosis of *Theileria annulata* infection of cattle in Tunisia: comparison of serology and blood smears. *Veterinary Research* 1996, 27(6), 613-621.
- Darghouth MA, Bouattour A, Kilan M.** Tropical theileriosis in Tunisia: epidemiology and control. *Parassitologia* 1999, 41(1), 33-36.
- Darghouth MA, Boulter NR, Gharbi M, Sassi L, Tait A, Hall R.** Vaccination of calves with an attenuated cell line of *Theileria annulata* and the sporozoite antigen SPAG-1 produces a synergistic effect. *Veterinary Parasitology* 2006, 142(1-2), 54-62.
- Darghouth MA.** Review on the experience with live attenuated vaccines against tropical theileriosis in Tunisia: considerations for the present and implications for the future. *Vaccine* 2008, 26 (6), 4-10.
- Das SS.** Prevalence of haemaprotozoan infections in domestic animals in Tripura (India). *Journal of Parasitology and Applied Animal Biology* 1993, 2(1), 53-56.
- Değer MS, Biçek K, Oğuz B.** Infestation rate and distribution of hard ticks on cattle in the Eastern Anatolia Region of Turkey. *Scientia Parasitologica* 2016, 17(3-4), 76-82.
- de Kok JB, d'Oliveira C, Jongejan F.** Detection of the protozoan parasite *Theileria annulata* in *Hyalomma* ticks by the polymerase chain reaction. *Experimental and Applied Acarology* 1993, 17(11), 839-846.
- de la Fuente J, Kocan KM.** Strategies for development of vaccines for control of ixodid tick species. *Parasite Immunology* 2006, 28(7), 275-283.
- de Vos AJ, Bessenger R, Banting LF.** *Theileria taurotragi*: a probable agent of bovine cerebral theileriosis. *Onderstepoort Journal of Veterinary Reserch* 1981, 48, 177-178.
- de Vos AJ, Roos JA.** Observations on the transmission of *Theileria mutans* in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 1981a, 48, 1-6.
- de Vos AJ, Roos JA.** The isolation of *Theileria taurotragi* in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 1981b, 48, 149-153.
- de Vos AJ, Bock RE.** Vaccination against bovine babesiosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2000, 916, 540-545.
- de Waal DT, Combrink MP.** Live vaccines against bovine babesiosis. *Veterinary Parasitology* 2006, 138(1-2), 88-96.

**Decaro N, Larocca V, Parisi A, Losurdo M, Lia RP, Greco MF, Miccolis A, Ventrella G, Otranto D, Buonavoglia C.** Clinical Bovine Piroplasmosis Caused by *Babesia occultans* in Italy. *Journal of Clinical Microbiology* 2013, 51(7), 2432–2434.

**Deniz A, Öncel T, İçen H, Şimşek A.** Diyarbakır yöresinde sığırlarda *Theileria annulata* ve *T. buffeli*'nin multipleks PCR ile saptanması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012, 18, A111-A114.

**Dhar S, Guatam OP.** Indirect fluorescent antibody test for serodiagnosis in cattle infected with *Theileria annulata*. *Indian Journal of Animal Sciences* 1977, 47, 720-723.

**Dhar S, Malhotra DV, Bhushan C, Gautam OP.** Chemotherapy of *Theileria annulata* infection with buparvaquone. *Veterinary Record* 1986, 119 (25-26), 635-636.

**Dickson J, Shiels BR.** Antigenic diversity of a major merozoite surface molecule in *Theileria annulata*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1993, 57(1), 55-64.

**Dinçer Ş, Sayın F, Karaer Z, Çakmak A, Friedhoff KT, Müller I, İnci A, Yukarı BA, Eren H.** Karadeniz Bölgesi sığırlarında bulunan kan parazitlerinin sero-insidensi üzerine araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1991, 38(1-2), 206-226.

**Dipeolu OO, Amoo A.** The presence of kinetes of a *Babesia* species in the hemolymph smears of engorged *Hyalomma* ticks in Nigeria. *Veterinary Parasitology* 1984, 17, 41-46.

**Dolan TT, Injairu R, Gisemba F, Maina JN, Mbadi G, Mbwiria SK, Mulela GHM, Othieno DAO.** A clinical trial of buparvaquone in the treatment of East Coast Fever. *Veterinary Record* 1992, 130, 536-538.

**d'Oliveira C, Van Der Weide M, Habela MA, Jacquiet P, Jongejan F.** Detection of *Theileria annulata* in blood samples of carrier cattle by PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 1995, 33, 2665-2669.

**Duarte SC, Linhares GF, Romanowsky TN, da Silveira Neto OJ, Borges LM.** Assessment of primers designed for the subspecies-specific discrimination among *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli* and *Babesia canis rossi* by PCR assay. *Veterinary Parasitology* 2008, 152(1-2), 16-20.

**Duh D, Jelovsek M, Avsic-Zupanc T.** Evaluation of an indirect fluorescence immunoassay for the detection of serum antibodies against *Babesia divergens* in humans. *Parasitology* 2007, 134,(2), 179-185.

**Dumanlı N, Özer E.** Elazığ yöresinde sığırlarda görülen kan parazitleri ve yayılışları üzerinde araştırmalar. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1987, 3, 159-166.

**Dumanlı N, Aktaş M, Çetinkaya B, Çakmak A, Köroğlu E, Şaki CE, Erdoğan Z, Nalbantoğlu S, Öngör H, Şimşek S, Karahan M.** Bazı Doğu ve Güneydoğu illerinde theileriosis yayılımının mikroskopik, serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, 2002.

**Dumanlı N, Aktaş M, Çetinkaya B, Çakmak A, Köroğlu E, Sakı CE, Erdoğan Z, Nalbantoğlu S, Öngör H, Şimşek S, Karahan M, Altay K.** Prevalance and distribution of tropical theileriosis in eastern Turkey. *Veterinary Parasitology* 2005, 127, 9-15.

**Dumanlı N, Altay K, Aydın MF.** Türkiye’de sığır, koyun ve keçilerde belirlenen kene türleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences* 2012, 3(2), 67-72.

**Düzgün A, Alabay M, Çerçi H, Emre Z, Çakmak A.** A serological survey using ELISA for *Babesia bovis* infection of cattle in Turkey, IAEA-TECDOC, 1992, 657, 175-177.

**Düzlü Ö, İnci A, Yıldırım A.** Karadeniz Bölgesi’ndeki sığırlardan elde edilen *Babesia bovis* suşlarının moleküler karakterizasyonu. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2011, 20(1), 18-28.

**Düzlü Ö, İnci A.** Sığırlarda Babesiosis. In: Özcel MA (ed). Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları Cilt 1, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 24, 2013, 82-101.

**Düzlü Ö, Yıldırım A, İnci A, Avcıoğlu H, Balkaya İ.** Sığırlarda *Babesia bovis* ve *Babesia bigemina*’nın Real-Time PCR ile araştırılması ve izolatların moleküler karakterizasyonu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2015, 62, 27-35.

**Eckert J, Friedhoff KT, Zahner H, Deplazes P.** Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin. 1. Auflage. *Stuttgart Enke Verlag* 2005, 575.

**Ekici ÖD, Sevinç F.** Seroepidemiology of *Babesia bigemina* in cattle in the Konya Province, Turkey: Endemic status. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2009, 53, 645-649.

**Ekici ÖD, Sevinç F, Işık N.** Instability of ovine babesiosis in an endemic area in Turkey. *Veterinary Parasitology* 2012, 188,(3-4), 372–375.

**El-Ashker M, Hotzel H, Gwida M, El-Beskawy M, Silaghi C, Tomaso H.** Molecular biological identification of *Babesia*, *Theileria*, and *Anaplasma* species in cattle in Egypt using PCR assays, gene sequence analysis and a novel DNA microarray. *Veterinary Parasitology* 2015, 207(3-4), 329-334.

**El-Azazy OME, El-Metenawy TM, Wassef HY.** *Hyalomma impeltatum* (Acari: Ixodidae) as a potential vector of malignant theileriosis in sheep in Saudi Arabia. *Veterinary Parasitology* 2001, 99, 305-309.

**El Imam AH, Taha KM.** Malignant Ovine Theileriosis (*Theileria lestoquardi*): A Review. *Jordan Journal of Biological Sciences* 2015, 8(3), 165-174.

**Ellis J, Hefford C, Baverstock PR, Dalrymple BP, Johnson AM.** Ribosomal DNA sequence comparison of *Babesia* and *Theileria*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1992, 54, 87-95.

**Enigk K, Friedhoff K.** Zur Wirtsspezifitaat von *Babesia divergens* (Piroplasmidae). *Zeitschrift für Parasitenkunde* 1962, 21, 238–256.

**Enigk K, Friedhoff K, Wirahadiredja S.** Zur Wirtsspezifität von *Babesia motasi* und *Babesia ovis* (Piroplasmidea). *Zeitschrift für Parasitenkunde* 1964, 24, 309-318.

**Eren H.** Ankara yöresinde sığır babesiosisinin sero-prevalansı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1993, 40, 23-37.

**Eren H, Çakmak A, Yukarı BA.** Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinde *Theileria annulata*'nın sero-prevalansı. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1995, 42, 57-60.

**Eren H, Özlem MB, Sert H, Kaplan A.** Aydın yöresi sığırlarında *Theileria annulata*'nın prevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 1998, 22 (2), 177-179.

**Erkut HM.** Ege Bölgesi sığırlarında piroplasmosis durumu ve tedavide yeni ilaçlamalar. *Bornova Veteriner Araştırma Enstitüsü Dergisi* 1967, 8(16), 120-130.

**Eshetu Eyob.** A Review on the diagnostic and control challenges of major tick-borne haemoparasite diseases of cattle. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 2015, 5(11), 160-172.

**Fahrimal Y, Goff WL, Jasmer DP.** Detection of *Babesia bovis* carrier cattle by using polymerase chain reaction amplification of parasite DNA. *Journal of Clinical Microbiology* 1992, 30(6), 1374-1379.

**Fawcett DW, Doxsey S, Stagg DA, Young AS.** The entry of sporozoites of *Theileria parva* into bovine lymphocytes in vitro. Electron microscopic observations. *European Journal of Cell Biology* 1982, 27, 10-21.

**Figuroa JV, Chieves LP, Byers PE, Frerichs WM, Buening GM.** Evaluation of a DNA-based probe for the detection of cattle experimentally infected with *Babesia bigemina*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1992a, 653, 131-145.

**Figuroa JV, Chieves LP, Johnson GS, Buening GM.** Detection of *Babesia bigemina*-infected carriers by polymerase chain reaction amplification. *Journal of Clinical Microbiology* 1992b, 30, 2576-2582.

**Figueroa JV, Chieves LP, Johnson GS, Goff WL, Buening GM.** Polymerase chain reaction-based diagnostic assay to detect cattle chronically infected with *Babesia bovis*. *Revista Latinoamericana de Microbiologia* 1994, 36(1), 47-55.

**Fitzpatrick JE, Kennedy CC, McGeown MG, Oreopoulos DG, Robertson JH, Soyannwo MA.** Human case of piroplasmosis (babesiosis). *Nature* 1968, 217, 861–862.

**Forsyth LMG, Jackson LA, Wilkie G, Sanderson A, Brown CGD, Preston PM.** Bovine cells infected in vivo with *Theileria annulata* express CD11b, the C3bi complement receptor. *Veterinary Research Communications* 1997, 21(4), 249-263.

**Forsyth LM, Minns FC, Kirvar E, Adamson RE, Hall FR, McOrist S, Brown CG, Preston PM.** Tissue damage in cattle infected with *Theileria annulata* accompanied by metastasis of cytokine-producing, schizont-infected mononuclear phagocytes. *Journal of Comparative Pathology* 1999, 120, 39-57.

**Friedhoff K, Scholtyseck E.** [Fine structure of *Babesia ovis* (Piroplasmidea) in *Rhipicephalus bursa* (Ixodoidea): transformation from spheroid to vermicule form]. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 1968, 30(4), 347-359.

**Friedhoff K, Scholtyseck E.** [Fine structure of the merozoites of *Babesia bigemina* in the ovary of *Boophilus microplus* and *Boophilus decoloratus*]. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 1969, 32(3), 266-283.

**Friedhoff KT, Scholtyseck E, Weber G.** Die Feinstruktur der differenzierten merozoiten von *Babesia ovis* in den Speicheldrüsen weiblicher Zecken. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 1972, 38, 132–140.

**Friedhoff KT, Scholtyseck E.** Fine structural identification of erythrocytic stages of *Babesia bigemina*, *Babesia divergens* and *Babesia ovis*. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 1977, 13, 195-204.

**Friedhoff KT, Scholtyseck E.** Fine structure of *Babesia ovis* trophozoites in *Rhipicephalus bursa* ticks. *Journal of Parasitology* 1968, 54, 1246-1250.

**Friedhoff KT.** Transmission of *Babesia*. In: Ristic M. (ed). *Babesiosis of Domestic Animals and Man*. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1988, 23-52.

**Friedhoff KT.** Tick-borne diseases of sheep and goats caused by *Babesia*, *Theileria* or *Anaplasma* spp. *Parasitologia* 1997, 39, 99-109.

**Fujisaki K, Ito Y, Kamio T, Kitaoko S.** The presence of *Theileria sergenti* in *Haemaphysalis longicornis* overwintering in pasture in Japan. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 1985, 79(5), 519-524.

**Fukumoto S, Xuan X, Nishikawa Y, Inoue N, Igarashi I, Nagasawa H, Fujisaki K, Mikami T.** Identification and expression of a 50-kilodalton surface antigen of *Babesia gibsoni* and evaluation of its diagnostic potential in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology* 2001a, 39(7), 2603-2609.

**Fukumoto S, Xuan X, Shigeno S, Kimbita E, Igarashi I, Nagasawa H, Fujisaki K, Mikami T.** Development of a polymerase chain reaction method for diagnosing *Babesia gibsoni* infection in dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science / The Japanese Society of Veterinary Science* 2001b, 63(9), 977-981.

**Gabrielli S, Totino V, Macchioni F, Zuñiga F, Rojas P, Lara Y, Roselli M, Bartoloni A, Cancrini G.** Human Babesiosis, Bolivia, 2013. *Emerging Infectious Diseases* 2016, 22(8), 1445-1447.

**Gachohi J, Skilton R, Hansen F, Ngumi P, Kitala P.** Epidemiology of East Coast fever (*Theileria parva* infection) in Kenya: past, present and the future. *Parasites & Vectors* 2012, 5, 194.

**Gajadhar AA, Marquardt WC, Hall R, Gunderson J, Ariztia-Carmona EV, Sogin ML.** Ribosomal RNA sequences of *Sarcocystis muris*, *Theileria annulata* and *Cryptosporidium parvum* reveal evolutionary relationships among apicomplexans, dinoflagellates, and ciliates. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1991, 45, 147-154.

**Garnham PCC, Bray RS.** The susceptibility of the higher primates to piroplasms. *Journal of Protozoology* 1959, 6, 352-355.

**Garnham PCC, Voller A.** Experimental studies on *Babesia divergens* in rhesus monkeys with special reference to its diagnosis by serological methods. *Acta Protozoologica* 1965, 3, 183-187.

**Gauer M, Mackenstedt U, Mehlhorn H, Schein E, Zapf F, Njenga E, Young A, Morzaria S.** DNA measurements and ploidy determination of developmental stages in the life-cycle of *Theileria annulata* and *Theileria parva*. *Parasitology Research* 1995, 81, 565-574.

**Gelfand JA.** *Babesia*. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, Dolin R, (eds.) Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone, 2000, 2899-2902.

**Georges K, Loria GR, Riili S, Greco A, Caracappa S, Jongejan F, Sparagano O.** Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridisation with a note on the distribution of ticks in Sicily. *Veterinary Parasitology* 2001, 99, 4, 273-286.



- Georges K, Ezeokoli C, Auguste T, Seepersad N, Pottinger A, Sparagano O, Tasker S.** A comparison of real-time PCR and reverse line blot hybridization in detecting feline haemoplasmas of domestic cats and an analysis of risk factors associated with haemoplasma infections. *BioMed Central Veterinary Research* 2012, 8 (103), 1-8.
- Gholami S, Laktarashi B, Shiadeh MM, Spotin A.** Genetic variability, phylogenetic evaluation and first global report of *Theileria luwenshuni*, *T. buffeli*, and *T. ovis* in sheepdogs in Iran. *Parasitology Research* 2016, 115(5), 2125-2130.
- Gill BS, Bhattacharyulu Y, Kaur D, Singh A.** Vaccination against bovine tropical theileriosis (*Theileria annulata*). *Nature* 1976, 264, 355-356.
- Gill BS, Bhattacharyulu Y, Kaur D, Singh A.** Immunization of cattle against tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) by “infection-treatment” method. *Annals of Veterinary Research* 1977, 8, 279-286.
- Glascodine J, Tetley L, Tait A, Brown D, Shiels B.** Developmental expression of a *Theileria annulata* merozoite surface antigen. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1990, 40(1), 105-112.
- Glass EJ, Innes EA, Spooner RL, Brown CGD.** Infection of bovine monocyte/macrophage populations with *Theileria annulata* and *Theileria parva*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1989, 22, 355-368.
- Glass EJ, Preston PM, Springbett A, Craigmile S, Kirvar E, Wilkie G, Brown CGD.** *Bos taurus* and *Bos indicus* (Sahiwal) calves respond differently to infection with *Theileria annulata* and produce markedly different levels of acute phase proteins. *International Journal for Parasitology* 2005, 35 337-347.
- Glass EJ, Crutchley S, Jensen K.** Living with the enemy or uninvited guests: functional genomics approaches to investigating host resistance or tolerance traits to a protozoan parasite, *Theileria annulata*, in cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2012, 148 (1-2), 178-189.
- Goff WL, Johnson WC, Parish SM, Barrington GM, Tuo W, Valdez RA.** The age-related immunity in cattle to *Babesia bovis* infection involves the rapid induction of interleukin-12, interferon-gamma and inducible nitric oxide synthase mRNA expression in the spleen. *Parasite Immunology* 2001, 23(9), 463-471.
- Goff WL, McElwain TF, Suarez CE, Johnson WC, Brown WC, Norimine J, Knowles DP.** Competitive enzyme-linked immunosorbent assay based on a rhoptry-associated protein 1 epitope specifically identifies *Babesia bovis*-infected cattle. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2003, 10(1), 38-43.

**Goff WL, Molloy JB, Johnson WC, Suarez CE, Pino I, Rhalem A, Sahibi H, Ceci L, Carelli G, Adams DS, McGuire TC, Knowles DP, McElwain TF.** Validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against *Babesia bovis*. *Clinical and Vaccine Immunology* 2006, 13(11), 1212-1216.

**Goff WL, Johnson WC, Molloy JB, Jorgensen WK, Waldron SJ, Figueroa JV, Matthee O, Adams DS, McGuire TC, Pino I, Mosqueda J, Palmer GH, Suarez CE, Knowles DP, McElwain TF.** Validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Babesia bigemina* antibodies in cattle. *Clinical and Vaccine Immunology* 2008, 15(9), 1316-1321.

**Goff WL, Johnson WC, Parish SM, Barrington GM, Elsasser TH, Davis WC, Valdez RA.** IL-4 and IL-10 inhibition of IFN-gamma- and TNF-alpha-dependent nitric oxide production from bovine mononuclear phagocytes exposed to *Babesia bovis* merozoites. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2002, 84(3-4), 237-251.

**Goodger BV, Mahoney DF.** Evaluation of the passive haemagglutination test for the diagnosis of *Babesia argentina* infection in cattle. *Australian Veterinary Journal* 1974, 50, 246-249.

**Goto M, Honda E, Ogura A, Nomoto A, Hanaki K.** Colorimetric detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by using hydroxy naphthol blue. *BioTechniques* 2009, 46(3), 167-172.

**Göksu K.** Bazı Karadeniz illerinin sığırlarında müşahade edilen Babesidae (Sporozoa: Piroplasmida) enfeksiyonları ve kene enfestasyonları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1968, 15, 45-57.

**Göksu K.** Yurdumuzun çeşitli bölgelerinde sığırlarda Piroplasmida enfeksiyonları (Piroplasmosis, Babesiosis, Theileriosis) ve Anaplasmosis'in yayılış durumları. *Türk Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 1970, 40 (4), 24-29.

**Gören S, Yetkin R.** Tektırnaklılarda, Sığırda, Koyunda, Keçide ve Köpekte Piroplasmos. Ulusoy Basımevi Ankara 1935.

**Graham OH, Hourrigan JL.** Eradication programs for the arthropod parasites of livestock. *Journal of Medical Entomology* 1977, 13, 629- 658.

**Gray JS, De Vos AJ.** Studies on a bovine *Babesia* transmission by *Hyalomma marginatum rufipes* Koch, 1844. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 1981, 48, 215-223.

**Gray MA, Brown CGD.** In vitro neutralization of theilerial sporozoite infectivity with immune serum. In: Irvin AD, Cunningham MP, Young AS (eds), *Advances in the Control of Theileriosis*, (Nijhoff, The Hague), 1981, 127-131.

**Gray JS.** Identity of the causal agents of human babesiosis in Europe. *International Journal of Medical Microbiology* 2006, 296(40),131-136.

**Gray JS, Weiss LM.** *Babesia microti*. In: Khan N (ed), *Emerging Protozoan Pathogens*, Taylor and Francis, Abingdon UK, 2008, 303-349.

**Gray J, Zintl A, Hildebrandt A, Hunfeld KP, Weiss L.** Zoonotic babesiosis: overview of the disease and novel aspects of pathogen identity. *Ticks and Tick Borne Diseases* 2010, 1, 3-10.

**Guan GQ, Ma ML, Moreau E, Liu JL, Lu BY, Bai Q.** A new ovine *Babesia* species transmitted by *Hyalomma anatolicum anatolicum*. *Experimental Parasitology* 2009, 122, 261-267.

**Guan G, Moreau E, Liu J, Hao X, Ma M, Luo J, Chauvin A, Yin H.** *Babesia* sp. BQ1 (Lintan): Molecular evidence of experimental transmission to sheep by *Haemaphysalis qinghaiensis* and *Haemaphysalis longicornis*. *Parasitology International* 2010, 59(2), 265-267.

**Gubbels JM, de Vos AP, van der Weide M, Viseras J, Schouls LM, de Vries E, Jongejan F.** Simultaneous detection of bovine *Theileria* and *Babesia* species by reverse line blot hybridization. *Journal of Clinical Microbiology* 1999, 37(6), 1782-1789.

**Gubbels MJ, Hong Y, van der WM, Qi B, Nijman IJ, Guangyuan L, Jongejan F.** Molecular characterisation of the *Theileria buffeli/orientalis* group. *International Journal of Parasitology* 2000, 30, 943-952.

**Gubbels MJ, Yin H, Bai Q, Liu G, Nijman IJ, Jongejan F.** The phylogenetic position of the *Theileria buffeli* group in relation to other *Theileria* species. *Parasitology Research* 2002, 88, 28-32.

**Gül Y, Aksoy G, Özdemir H.** Elazığ ve çevresinde *Theileria annulata* ile enfekte sığırların Buparvaquone (Butalex)'la tedavisi üzerine araştırmalar. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1991, 2(1), 97-116.

**Güler S.** Türkiye sığırlarında *Theileria mutans* enfeksiyonu, yayılışı ve vektörleri üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1978, 25, 323-338.

**Gün H, Tanyüksel M, Yukarı BA, Çakmak A, Karaer Z.** Türkiye'de babesiosisin ilk insan serodiagnozu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 1996, 20(1), 1-7.

**Güven E, Çakmak A, Orkun Ö, Akçay A, Koçak A.** Prevalence of *Babesia bigemina* and *Theileria annulata* in cattle in Ereğli, Turkey. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012, 1(1), 18-21.

**Hacılarlıoğlu S.** *Theileria annulata* sitokrom b geninde mutasyonların belirlenerek buparvaquone direnciyle ilişkisinin araştırılması ve Aydın çevresindeki enfekte sığırlarda direncin yaygınlığının saptanması. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2013.

**Hall FR.** Antigens and immunity in *Theileria annulata*. *Parasitology Today* 1988, 4(9), 257-261.

**Hall R, Hunt PD, Carrington M, Simmons D, Williamson S, Mecham RP, Tait A.** Mimicry of elastin repetitive motifs by *Theileria annulata* sporozoite surface antigen. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1992, 53, 105-112.

**Hardrys H, Balik M, Schierwater B.** Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology* 1992, 1, 55-63.

**Hashemi-Fesharki R.** Tick-borne diseases of sheep and goats and their related vectors in Iran. *Parasitologia* 1997, 39, 115-117.

**Hashemi-Fesharki R, Uilenberg G.** *Babesia crassa n.sp.* (Sporozoa, Babesiidae) of domestic sheep in Iran. *Veterinary Quarterly* 1981, 2, 3-14.

**Hayashida K, Hara Y, Abe T, Yamasaki C, Toyoda A, Kosuge T, Suzuki Y, Sato Y, Kawashima S, Katayama T, Wakaguri H, Inoue N, Homma K, Tada-Umezaki M, Yagi Y, Fujii Y, Habara T, Kanehisa M, Watanabe H, Ito K, Gojobori T, Sugawara H, Imanishi T, Weir W, Gardner M, Pain A, Shiels B, Hattori M, Nene V, Sugimoto C.** Comparative Genome Analysis of Three Eukaryotic Parasites with Differing Abilities To Transform Leukocytes Reveals Key Mediators of Theileria-Induced Leukocyte Transformation. *mBio* 2012, 3(5), 204-212.

**He W, Kazuhiko O, Sugimoto C, Onuma M.** *Theileria orientalis*: Cloning a cDNA encoding protein similar to thiol protease with haemoglobin-binding activity. *Experimental Parasitology* 2005, 111, 3, 143-153.

**He L, Zhou YQ, Oosthuizen MC, Zhao JL.** Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) detection of *Babesia orientalis* in water buffalo (*Bubalus bubalis*, Linnaeus, 1758) in China. *Veterinary Parasitology* 2009, 165(1-2), 36-40.

**Hekimoğlu O, Özer AN.** Distribution of hard tick species in Ankara, Turkey. *Turkish Journal of Zoology* 2015, 39, 256-262.

**Henegariu O, Heerema NA, Dlouhy SR, Vance GH, Vogt PH.** Multiplex PCR: Critical Parameters and Step-by Step Protocol. *Biotechniques* 1997, 23(3), 504-511.

**Herwaldt B, Persing DH, Precigout EA, Goff WL, Mathiesen DA, Taylor PW, Eberhard ML, Gorenflot AF.** A fatal case of babesiosis in Missouri: identification of another piroplasm that infects humans. *Annals of Internal Medicine* 1996, 124, 643-650.

**Herwaldt BL, Caccio S, Gherlinzoni F, Aspöck H, Slemenda SB, Piccaluga P, Martinelli G, Edelhofer R, Hollenstein U, Poletti G, Pampiglione S, Loschenberger K, Tura S, Pieniasek N J.** Molecular characterization of a non-*Babesia divergens* organism causing zoonotic babesiosis in Europe. *Emerging Infectious Diseases* 2003, 9, 942-948.

**Higuchi S, Kawamura S, Yasuda Y.** Development of *Theileria sergenti* in the haemolymph of the tick *Haemaphysalis longicornis*. *Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene [A]* 1987; 264(3-4): 521-526.

**Hildebrandt A, Hunfeld KP, Baier M, Krumbholz A, Sachse S, Lorenzen T, Kiehntopf M, Fricke HJ, Straube E.** First confirmed autochthonous case of human *Babesia microti* infection in Europe. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2007, 26(8), 595-601.

**Hines SA, McElwain TF, Buening GM, Palmer GH.** Molecular characterization of *Babesia bovis* merozoite surface proteins bearing epitopes immunodominant in protected cattle. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1989, 37(1), 1-9.

**Hodgson JL, Stiller D, Jasmer DP, Buening GM, Wagner GG, McGuire TC.** *Babesia bigemina*: quantitation of infection in nymphal and adult *Boophilus microplus* using a DNA probe. *Experimental Parasitology* 1992, 74(1), 117-126.

**Hoffmann G, Hörchner F, Schein E, Garber H.** Saisonales Auftreten von Zecken und Piroplasmen bei Haustieren in den Asiatischen Provinzen der Türkei. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 1971, 84, 152-156.

**Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford III SR, Krause PJ, Persing DH.** Babesiosis. *Clinical Microbiology Reviews, American Society for Microbiology* 2000, 13(3), 451-469.

**Hooshmand-Rad P.** The pathogenesis of anaemia in *Theileria annulata* infection. *Research in Veterinary Science* 1976, 20, 324-329.

**Hornok S, Takacs N, Kotschan J, György Z, Micsutka A, Icton S, Flaisz B, Farkas R, Hofmann-Lehmann R.** Diversity of *Haemaphysalis*-associated piroplasms of ruminants in Central-Eastern Europe, Hungary. *Parasites & Vectors* 2015, 8, 627.

**Hoyte HM.** Initial development of infectious *Babesia bigemina*. *Australian Veterinary Journal* 1961, 8, 462-466.

**Huang X, Xuan X, Yokoyama N, Xu L, Suzuki H, Sugimoto C, Nagasawa H, Fujisaki K, Igarashi I.** High-level expression and purification of a truncated merozoite antigen-2 of *Babesia equi* in *Escherichia coli* and its potential for immunodiagnosis. *Journal of Clinical Microbiology* 2003, 41, 1147-1151.

**Huang X, Xuan X, Hirata H, Yokoyama N, Xu L, Suzuki N, Igarashi I.** Rapid immunochromatographic test using recombinant SAG2 for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in cats. *Journal of Clinical Microbiology* 2004a, 42, 351-353.

**Huang X, Xuan X, Xu L, Zhang S, Yokoyama N, Suzuki N, Igarashi I.** Development of an immunochromatographic test with recombinant EMA-2 for the rapid detection of antibodies against *Babesia equi* in horses. *Journal of Clinical Microbiology* 2004b, 42(1), 359-361.

**Huang X, Xuan X, Verdida RA, Zhang S, Yokoyama N, Xu L, Igarashi I.** Immunochromatographic test for simultaneous serodiagnosis of *Babesia caballi* and *B. equi* infections in horses. *Clinical and Vaccine Immunology* 2006, 13(5), 553-555.

**Hunfeld KP, Hildebrandt A, Gray JS.** Babesiosis: recent insights into an ancient disease. *International Journal for Parasitology* 2008, 38(11), 1219-1237.

**Hulliger L, Wilde JKH, Brown CGB, Turner L.** Mode of multiplication of *Theileria* in cultures of bovine lymphocytic cells. *Nature* 1964, 203, 728-730.

**Hussein HS, Asgah NA, Khailfa MS, Diab FM.** The blood parasites of indigenous livestock in Saudi Arabia. *Arab Gulf Journal of Scientific Research* 1991, 9(3), 143-160.

**Igarashi I, Aikawa M, Kreier JP.** Worldwide impact of Babesiosis. In: Ristic M (ed.), *Babesiosis of Domestic Animals and Man*. CRC Press, Florida, 1988, 53-71.

**Igarashi I, Suzuki R, Waki S, Tagawa Y, Seng S, Tum S, Omata Y, Saito A, Nagasawa H, Iwakura Y, Suzuki N, Mikami T, Toyoda Y.** Roles of CD4(+) T cells and gamma interferon in protective immunity against *Babesia microti* infection in mice. *Infection and Immunity* 1999, 67(8), 4143-4148.

**Ikadai H, Tanaka H, Shibahara N, Matsuu A, Uechi M, Itoh N, Oshiro S, Kudo N, Igarashi I, Oyamada T.** Molecular evidence of infections with *Babesia gibsoni* parasites in Japan and evaluation of the diagnostic potential of a loop-mediated isothermal amplification method. *Journal of Clinical Microbiology* 2004, 42(6), 2465-2469.

**Irvin AD, Young ER, Osborn GD.** Attempts to infect T-lymphocyte-deficient mice with *Babesia* species of cattle. *Research of Veterinary Science* 1978, 25, 245-246.

**Irvin AD.** Characterization of species and strains of *Theileria*. *Advances in Parasitology* 26, 145-197.

**Iseki H, Alhassan A, Ohta N, Thekiso OM, Yokoyama N, Inoue N, Nambota A, Yasuda J, Igarashi I.** Development of a multiplex loopmediated isothermal amplification (mLAMP) method for the simultaneous detection of bovine *Babesia* parasites. *Journal of Microbiological Methods* 2007, 71(3), 281-287.

**İça A.** Sığırlarda bazı *Babesia* türlerinin reverse line blotting ve indirek floresan antikor testi ile karşılaştırmalı tanısı. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2004, 1(2), 77-85.

**İça A, Yıldırım A, İnci A.** Kayseri yöresinde koyunlarda kan protozoonlarının Reverse Line Blotting Yöntemi ile araştırılması. XIV Ulusal Parazitoloji Kongresi, s161, Ege Üniversitesi, İzmir, 2005.

**İça A, Vatansever Z, Yıldırım A, Düzlü Ö, İnci A.** Detection of *Theileria* and *Babesia* species in ticks collected from cattle. *Veterinary Parasitology* 2007a, 148 (2), 156-160.

**İça A, İnci A, Yıldırım A.** Parasitological and molecular prevalence of bovine *Theileria* and *Babesia* species in the vicinity of Kayseri. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2007b, 31(1), 33-38.

**İça A, Özkan F.** Kütahya Yöresi'nde yayılış gösteren kene türlerinin araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2015, 39, 117-123.

**İlhan T.** *Theileria annulata*, Immunity and Carrier State. Msc thesis by research, University of Edinburgh, Edinburgh, Scotland 1995.

**İlhan T, Williamson S, Kirvar E, Shiels B, Brown CG.** *Theileria annulata*: carrier state and immunity. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1998, 849, 109-125.

**İlhan T.** Diagnostic methods for epidemiological studies of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection of cattle). Doktora tezi, University of Edinburgh, 1999.

**İmam AHE, Taha KM.** Malignant ovine theileriosis (*Theileria lestoquardi*): A review. *Jordan Journal of Biological Sciences* 2015, 8(3), 165-174.

**İnci A, Yukarı BA, Sayın F.** Çankırı yöresinde bazı koyun ve keçi sürülerinde babesiosis ve theileriosis etkenlerinin mikroskopik kan muayenesiyle araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1998, 45, 105-113.

**İnci A.** Ankara'nın Çubuk ilçesinde sığırlarda babesiosisin seroinsidensi üzerine araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1992, 39(1-2), 153-167.

**İnci A, Çakmak A, Karaer Z, Dinçer Ş, Sayın F, İça A.** Kayseri yöresinde sığırlarda babesiosisin seroprevalansı. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2002a, 26, 1345-1350.

**İnci A, Karaer Z, İça A.** Kayseri yöresinde koyun ve keçilerde babesiosis. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2002b, 16(1), 79-83.

**İnci A, Nalbantoğlu S, Çam Y, Atasever A, Karaer Z, Çakmak A, Sayın F, Yukarı BA, İça A, Deniz A.** Kayseri yöresinde koyun ve keçilerde theileriosis ve kene enfestasyonları. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 2003, 27, 57-60.

**İnci A, İça A, Albasan H.** *Babesia* Enfeksiyonlarında İmmunite. In: Özcel MA, İnci A, Turgay N, Köroğlu E (Eds), Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji. Parazitoloji Derneği Yayınları, İzmir, 2007, 508-515.

**İnci A, İça A, Yıldırım A, Vatansever Z, Çakmak A, Albasan H, Çam Y, Atasever A, Düzlü Ö.** Epidemiology of tropical theileriosis in the Cappadocia region. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2008, 32 (1), 57-64.

**İnci A, İça A, Yıldırım A, Düzlü Ö.** Identification of *Babesia* and *Theileria* species in small ruminants in Central Anatolia (Turkey) via reverse line blotting. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 2010, 34 (2), 205-210.

**İnci A, Yazar S, Tunçbilek AS, Canhilal R, Doğanay M, Aydın L, Aktaş M, Vatansever Z, Özdamendeli A, Özbel Y, Yıldırım A, Düzlü Ö.** Vectors and Vector-Borne Diseases in Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013, 60, 281-296.

**Jalali SM, Khaki Z, Kazemi B, Rahbari S, Shayan P, Bandehpour M, Yasini SP.** Molecular Detection and Identification of *Theileria* Species by PCR-RFLP Method in Sheep from Ahvaz, Southern Iran. *Iranian Journal of Parasitology* 2014, 9(1), 99-106.

**Jeong W, Kweon CH, Kang SW, Paik SG.** Diagnosis and quantification of *Theileria sergenti* using TaqMan PCR. *Veterinary Parasitology* 2003, 111(4), 287-295.

**Jeong W, Kweon CH, Kim JM, Jang H, Paik SG.** Serological investigation of *Theileria sergenti* using latex agglutination test in South Korea. *Journal of Parasitology* 2005, 91, 164-169.

**Jia H, Liao M, Lee E, Nishikawa Y, Inokuma H, Ikadai H, Matsuu A, Igarashi I, Xuan X.** Development of an immunochromatographic test with recombinant BgSA1 for the diagnosis of *Babesia gibsoni* infection in dogs. *Parasitology Research* 2007, 100(6), 1381-1384.

**Johnston LA, Pearson RD, Leatch G.** Evaluation of an indirect fluorescent antibody test for detecting *Babesia argentina* infection in cattle. *Australian Veterinary Journal* 1973, 49(8), 373-377.

**Jongejan F, Musisi FL, Moorhouse PDS, Snacken M, Uilenberg G.** *Theileria taurotragi* in Zambia. *Veterinary Quarterly* 1986, 8(3), 261-263.



**Kakoma I, Mehlhorn H.** *Babesia* of domestic animals. In: Kreier JP (ed), Parasitic protozoa, 2nd ed, vol. 7. Academic Press, San Diego, California, 1993, 141- 216.

**Kalkan K, Özçelik S, Malatyalı E.** Sivas'ta insanlarda babesiosis seroprevalansının araştırılması. *Cumhuriyet Tıp Dergisi* 2010, 32, 276-280.

**Kamau J, de Vos AJ, Playford M, Salim B, Kinyanjui P, Sugimoto C.** Emergence of new types of *Theileria orientalis* in Australian cattle and possible cause of theileriosis outbreaks. *Parasites and Vectors* 2011, 4(1) , 22.

**Kappmeyer LS, Perryman LE, Knowles DP Jr.** A *Babesia equi* gene encodes a surface protein with homology to *Theileria* species. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1993, 62(1), 121-124.

**Kappmeyer LS, Perryman LE, Hines SA, Baszler TV, Katz JB, Hennager SG, Knowles DP.** Detection of equine antibodies to *Babesia caballi* by recombinant *B. caballi* rhoptry-associated protein 1 in a competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology* 1999, 37(7), 2285-2290.

**Kar S, Güven E, Karaer Z.** Ankara'da şubat ayında babesiosis olgusu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2008, 32(4), 379-381.

**Karaer Z, Nalbantoğlu S.** Protozoon Hastalıklarında Tedavi. In: Burgu A, Karaer Z. (eds) Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıklarında Tedavi, İzmir, 2005, 14-19.

**Karaer Z, Güven E, Nalbantoğlu S, Kar S, Orkun Ö, Ekdal K, Koçak A, Akçay A.** Ticks on humans in Ankara, Turkey. *Experimental and Applied Acarology* 2011, 54(1), 85-91.

**Karagöç T, Aysul N, Bakırcı S, Aypak S, Eren H.** Aydın ili sığırlarında *Theileria annulata* seroprevalansı. Poster Sunumu, XIV. Ulusal Parazitoloji Kongresi, İzmir, 18-25 Eylül 2005a.

**Karagöç T, Bilgiç HB, Hoşgör M, Aysul N, Aypak S, Eren H.** Aydın yöresi sığırlarında RLB tekniği kullanılarak *Theileria*, *Babesia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* türlerinin belirlenmesi. Poster Sunumu, XIV. Ulusal Parazitoloji Kongresi, İzmir, 18-25 Eylül 2005b.

**Karagöç T, Eren H.** *Theileria annulata* enfeksiyonunda immunité. In: Özcel MA, İnci A, Turgay N, Köroğlu E (eds). Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları No:21, İzmir, 2007, 516-523.

**Karag n  T, Eren H, Bakırcı S, Bilgiç HB, Hacılarlıoğlu S, Shiels B, Tait A, Koç N, Aksulu A.** *T. annulata*'da buparvaquone direncinin sitokrom b genindeki mutasyonlarla ilişkisinin belirlenmesi ve dirençli parazit popülasyonlarının tespiti amacıyla sahaya yönelik tanı metotlarının geliştirilmesi. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu, Proje No: 113O598, 2017.

**Karag n  T, Bilgiç HB.** Sığırlarda Theileriosis. In: Özcel MA (ed). Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları Cilt 1, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 24, 2013, 102-113.

**Karakashian SJ, Rudzinska MA, Spielman A, Lewengrub S, Piesman J, Shoukrey N.** Ultrastructural studies on sporogony of *Babesia microti* in salivary gland cells of the tick *Ixodes dammini*. *Cell Tissue Research* 1983, 231, 275-287.

**Karatepe B, Karatepe M, Nalbantoğlu S, Karaer Z,  akmak A.** Niğde yöresinde sığırlarda babesiosisin prevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2003, 27(4), 243-246.

**Karatepe B, Karatepe M.** Theileriosis. In: Özcel MA (ed). Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları Cilt 2, 2013, 804-811.

**Karatepe B, Karatepe M.** Theileriosis. In: Özcel MA (ed). Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları Cilt 2, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 24, 2013a, 804-811.

**Karatepe B, Karatepe M.** Babesiosis. In: Özcel MA (ed). Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları Cilt 2, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 24, 2013b, 796-803.

**Katende JM, Goddeeris BM, Morzaria SP, Nkonge CG, Musoke AJ.** Identification of a *Theileria mutans*-specific antigen for use in an antibody and antigen detection ELISA. *Parasite Immunology* 1990, 12(4), 419-433.

**Katende J, Morzaria S, Toye P, Skilton R, Nene V, Nkonge C, Musoke A.** An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Theileria parva* antibodies in cattle using a recombinant polymorphic immunodominant molecule. *Parasitology Research* 1998, 84(5), 408-416.

**Katzer F, Carrington M, Knight P, Williamson S, Tait A, Morrison IW, Hall R.** Polymorphism of SPAG-1, a candidate antigen for inclusion in a sub-unit vaccine against *Theileria annulata*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1994, 67(1), 1-10.

**Katzer F, Lizundia R, Ngugi D, Blake D, McKeever D.** Construction of a genetic map for *Theileria parva*: Identification of hotspots of recombination. *International Journal for Parasitology* 2011, 41, 6, 669-675.

**Kaufhold A, Podbielski A, Baumgarten G, Blokpoel M, Top J, Schouls L.** Rapid typing of group A streptococci by the use of DNA amplification and non-radioactive allele-specific oligonucleotide probes. *FEMS Microbiology Letters* 1994, 119(1-2), 19-25.

**Kaufmann J.** Parasitic infections of domestic animals: a diagnostic manual. Birkhauser Verleag, Basel, Boston, Berlin, 1996.

**Kawashima S, Katayama T, Wakaguri H, Inoue N, Homma K, Tada-Umezaki M, Kawazu S, Kamio T, Kakuda T, Terada Y, Sugimoto C, Fujisaki K.** Phylogenetic relationships of the benign *Theileria* species in cattle and Asian buffalo based on the major piroplasm surface protein. *International Journal for Parasitology* 1999, 29, 613- 618.

**Kawazu S, Sugimoto C, Kamio T, Fujisaki K.** Analysis of the genes encoding immunodominant piroplasm surface proteins of *Theileria sergenti* and *Theileria buffeli* by nucleotide sequencing and polymerase chain reaction. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1992, 56, 169-175.

**Kawazu S, Kamio T, Sekizaki T, Fujisaki K.** *Theileria sergenti* and *T. buffeli*: polymerase chain reaction-based marker system for differentiating the parasite species from infected cattle blood and infected tick salivary gland. *Experimental Parasitology* 1995, 81(4), 430-435.

**Kaya G, Çakmak A, Karaer Z.** Seroprevalence of theileriosis and babesiosis of cattle. *Medycyna Weterynaryjna* 2006, 62, 156-158.

**Kaya M.** Tatvan yöresinde yaşayan ve kene ısırığı hikayesi olan insanlarda babesiosis yaygınlığının araştırılması. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 2011.

**Kırvar E, İlhan T, Katzer E, Wilkie G, Hooshmand-Rad P, Brown CGD.** Detection of *Theileria lestoquardi* (*T. hirci*) in Ticks, Sheep, and Goats Using the Polymerase Chain Reaction. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1998, 849, 52-62.

**Kiara H, Jennings A, Bronsvort BM, Handel IG, Mwangi ST, Mbole-Kariuki M, Van Wyk IC, Poole EJ, Hanotte O, Coetzer JA, Woolhouse ME, Toye PG.** A longitudinal assessment of the serological response to *Theileria parva* and other tick-borne parasites from birth to one year in a cohort of indigenous calves in western Kenya. *Parasitology*, 2014, 141(10), 1289-1298.

**Kim CM, Alhassan A, Verdida RA, Yokoyama N, Xuan X, Fujisaki K, Kawazu S, Igarashi I.** Development of two immunochromatographic tests for the serodiagnosis of bovine babesiosis. *Veterinary Parasitology* 2007a, 148, 137-143.

**Kim C, Iseki H, Herbas MS, Yokoyama N, Suzuki H, Xuan X, Fujisaki K, Igarashi I.** Development of TaqMan-based real-time PCR assays for diagnostic detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2007b, 77(5), 837-841.

**Kim CM, Blanco LB, Alhassan A, Iseki H, Yokoyama N, Xuan X, Igarashi I.** Development of a rapid immunochromatographic test for simultaneous serodiagnosis of bovine babesioses caused by *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2008, 78(1), 117-121.

**Kirvar E, İlhan T, Katzer F, Hooshmand-Rad P, Zwegarth E, Gerstenberg C, Phipps P, Brown CG.** Detection of *Theileria annulata* in cattle and vector ticks by PCR using the Tams1 gene sequences. *Parasitology* 2000, 120, 245-254.

**Knight P, Musoke AJ, Gachanja JN, Nene V, Katzer F, Boulter N, Hall R, Brown CG, Williamson S, Kirvar E, Bell-Sakyi L, Hussain K, Tait A.** Conservation of neutralizing determinants between the sporozoite surface antigens of *Theileria annulata* and *Theileria parva*. *Experimental Parasitology* 1996, 82(3), 229-241.

**Knowles DP, Lowell JR, Kappmeyer S, Stiller D, Hennager SG, Perryman LE.** Antibody to a recombinant merozoite protein epitope identifies horses infected with *Babesia equi*. *Journal of Clinical Microbiology* 1992, 30, 3122-3126.

**Koch R.** Kultivierungversuch der Hunde piroplasmen. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten* 1906, 54, 1-9.

**Krause PJ, Telford SR 3rd, Ryan R, Conrad PA, Wilson M, Thomford JW, Spielman A.** Diagnosis of babesiosis: evaluation of a serologic test for the detection of *Babesia microti* antibody. *The Journal of Infectious Diseases* 1994, 169(4), 923-926.

**Kreier JP, Baker JR.** Parasitic Protozoa. Allen and Unwin, Inc., Winchester, Massachusetts 1987, 2-5.

**Krylov MV.** Piroplasmida. Fauna, systematics, and evolution. Zoologicheskogo Instituta Akademiia nauk SSSR Leningrad, 1981, 133.

**Kurt Ö, Girginkardeşler N.** Babesiosis. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2001, 25(1), 94-98.

**Kurtpınar H.** Türkiye keneleri: morfoloji, biyoloji, konakçı yayılışları ve medikal önemleri. Güven Matbaası, Ankara, 1954.

**Kuttler KL, Robinson RM, Rogers WP.** The detection of specific complement-fixing antibodies in serum of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) with *Theileria* infection. *Canadian Journal of Comparative Medical and Veterinary Sciences* 1967, 31(12), 354-357.

**Kuttler KL** Babesiosis. *Foreign Animal Diseases* 1984, 76-96.

**Kuttler KL, Zaugg L, Yunker CE.** The pathogenicity and immunologic relationship of virulent and tissue culture adapted *Babesiosis bovis*. *Veterinary Parasitology* 1988, 27, 239-244.

**Kuttler KL.** World-wide Impact of Babesiosis. In: Ristic M (ed), *Babesiosis of Domestic Animals and Man*, Boca Raton, Florida, CRC Press, 1988, 1-22.

**Laiblin C.** Clinical studies on *Theileria annulata* infection in cattle. II. Hematological studies. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 1978, 91, 48-50.

**Lawrence JA.** The differential diagnosis of the bovine theilerias of southern Africa. *Journal of the South African Veterinary Medical Association* 1979, 50, 311-313.

**Lawrence JA, Mackenzie PKI, Norval RAI.** Isolation of *Theileria mutans* in Zimbabwe. *Zimbabwe Veterinary Journal* 1981, 12, 27-30.

**Lawrence JA, Norval RAI, Uilenberg G.** *Rhipicephalus zambeziensis* as a vector of bovine Theileriidae. *Tropical Animal Health and Production* 1983, 15, 39-42.

**Lawrence JA, de Vos AJ, Irvin AD.** Theileriosis. In: Coetzer JAW, Thomson GR, Tustin RC (eds). *Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to Southern Africa* 2nd ed. Oxford University, Cape Town, 1994.

**Lawrence JA, Williamson SM.** *Theileria mutans* infection. In: Coetzer JAW, Tustin RC, *Infectious Diseases of Livestock*, Oxford University Press, Oxford, 2006, 480-482.

**Lawrence JA, Perry BD, Williamson SM.** East Coast Fever. In: Coetzer JAW, Tustin RC (eds), *Infectious Diseases of Livestock*, Oxford University Press, 2006, 448-467.

**Leefflang P, Perie NM.** Comparative immunofluorescent studies on 4 *Babesia* species of cattle. *Research in Veterinary Science* 1972, 13, 342-346.

**Leemans I, Hooshmand-Rad P, Uggla A.** The indirect fluorescent antibody test based on schizont antigen for study of the sheep parasite *Theileria lestoquardi*. *Veterinary Parasitology* 1997, 69, 9-18.

**Leemans I, Brown D, Fossum C, Hooshmand-Rad P, Kirvar E, Wilkie G, Uggla A.** Infectivity and cross-immunity studies of *Theileria lestoquardi* and *Theileria annulata* in sheep and cattle: II. In vitro studies. *Veterinary Parasitology* 1999, 82(3), 193-204.

**Lestoquard F, Ekrem İ.** les piroplasmoses du mouton en Turquie. *Bulletin de la Société de pathologie exotique* 1931, 2, 9: 822-826.

**Levine ND, Corliss JO, Cox FE, Deroux G, Grain J, Honigberg BM, Leedale GF, Loeblich AR, III, Lom J, Lynn D, Merinfeld EG, Page FC, Poljansky G, Sprague V, Vavra J, Wallace FG.** A newly revised classification of the protozoa. *Journal of Protozoology* 1980, 27, 37-58.

**Levine ND.** Progress in taxonomy of the Apicomplexan protozoa. *Journal of Protozoology* 1988, 35, 518-520.

**Levine ND.** Apicomplexa: The Piroplasms, *Veterinary Parasitology* 1985, 291-328.

**Lew A, Jorgensen W.** Molecular approaches to detect and study the organisms causing bovine tick borne diseases: Babesiosis and Anaplasmosis. *African Journal of Biotechnology* 2005, 4(4), 292-302.

**Lewis D, Williams H.** Infection of the Mongolian gerbil with the cattle piroplasm *Babesia divergens*. *Nature* 1979, 278, 170-171.

**Lewis D, Holman MR, Purnell RE, Young ER, Herbert IV, Bevan WJ.** Investigations on *Babesia motasi* isolated from Wales. *Research in Veterinary Science* 1981, 31(2), 239-243.

**Li Y, Luo J, Liu Z, Guan G, Gao J, Ma M, Dang Z, Liu A, Ren Q, Lu B, Liu J, Zhao H, Li J, Liu G, Bai Q, Yin H.** Experimental transmission of *Theileria* sp. (China I) infective for small ruminants by *Haemaphysalis longicornis* and *Haemaphysalis qinghaiensis*. *Parasitology Research* 2007, 101(3), 533-538.

**Li Y, Luo J, Guan G, Ma M, Liu A, Liu J, Ren Q, Niu Q, Lu B, Gao J, Liu Z, Dang Z, Tian Z, Zhang B, He Z, Bai Q, Yin H.** Experimental transmission of *Theileria uilenbergi* infective for small ruminants by *Haemaphysalis longicornis* and *Haemaphysalis qinghaiensis*. *Parasitology Research* 2009, 104(5), 1227-1231.

**Liu LJ, Ren QY, Bai Q, Ahmed JS, Luo JX.** At least two genetically distinct large *Babesia* species infective to sheep and goats in China. *Veterinary Parasitology* 2007, 147, 246-251.

**Liu J, Yin H, Liu G, Guan G, Ma M, Liu A, Liu Z, Li Y, Ren Q, Dang Z, Gao J, Bai Q, Zhao H, Luo J.** Discrimination of *Babesia major* and *Babesia ovata* based on ITS1-5.8S-ITS2 region sequences of rRNA gene. *Parasitol Research* 2008, 102, 709-713.

**Liu Z, Wang Z, Yin H, Luo J, Zhang B, Kullmann B, Abdo J, Salih D, Ahmed J, Seitzer U.** Identification of *Theileria uilenbergi* immunodominant protein for development of an indirect ELISA for diagnosis of ovine theileriosis. *International Journal for Parasitology* 2010, 40(5), 591-598.

**Liu A, Guan G, Du P, Gou H, Zhang J, Liu Z, Ma M, Ren Q, Liu J, Yang J, Li Y, Niu Q, Bai Q, Yin H, Luo J.** Rapid identification and differentiation of *Theileria sergenti* and *Theileria sinensis* using a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay. *Veterinary Parasitology* 2012, 8.

**Luo Y, Jia H, Terkawi MA, Goo YK, Kawano S, Ooka H, Li Y, Yu L, Cao S, Yamagishi J, Fujisaki K, Nishikawa Y, Saito-Ito A, Igarashi I, Xuan X.** Identification and characterization of a novel secreted antigen 1 of *Babesia microti* and evaluation of its potential use in enzymelinked immunosorbent assay and immunochromatographic test. *Parasitology International* 2011, 60(2), 119-125.

**Lu Y, Guan G, Jiang T, Li Y, Yang J, Liu G, Luo J, Yin H, Liu Z.** Development of an immunochromatographic strip for the serodiagnosis of *Theileria* infection in sheep. *Parasites and Vectors* 2015, 8, 621.

**Luo JX, Yin H.** Theileriosis of Sheep and Goats in China. In Proceedings of the EU International Symposium on Tick-Borne Disease, XiÕan China, 2-6 September, 1996.

**Luo J, Yin H, Guan G, Zhang Q, Lu W.** Description of a new *Babesia sp.* infective for cattle in China. *Parasitology Research* 2002, 88, 13-15.

**Mackensted U, Gauer M, Fuchs P, Zapf F, Schein E, Mehlhorn H.** DNA measurements reveal differences in the life cycles of *Babesia bigemina* and *B. canis*, two typical members of the genus *Babesia*. *Parasitology Research* 1995, 81, 595-604.

**Mahoney DF** *Babesia* of domestic animals, Kreier JP (ed), Parasitic Protozoa, Academic Press, New York, 1977, 152.

**Malandrin L, Jouglin M, Moreau E, Chauvin A.** Individual heterogeneity in erythrocyte susceptibility to *Babesia divergens* is a critical factor for the outcome of experimental spleen-intact sheep infections. *Veterinary Research* 2009, 40, 25.

**Mans BJ, Pienaar R, Latif AA, Potgieter FT.** Diversity in the 18S SSU rRNA V4 hypervariable region of *Theileria* in bovines and African buffalo (*Syncerus caffer*) from southern Africa. *Parasitology* 2011, 138, 766-779.

**Mans BJ, Pienaar R, Latif AA.** A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 2015, 4(1), 104-118.

**Martin-Sanchez J, Viseras J, Adroher F J, Garcia-Fernandez P.** Nested polymerase chain reaction for detection of *Theileria annulata* and comparison with conventional diagnostic techniques: its use in epidemiology studies. *Parasitology Research* 1999, 85(3), 243-245.

**Matsuu A, Ono S, Ikadai H, Uchide T, Imamura S, Onuma M, Okano S, Higuchi S.** Development of a SYBR green real-time polymerase chain reaction assay for quantitative detection of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) DNA. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 2005, 17(6), 569-573.

**McElwain TF, Perryman LE, Davis WC, McGuire TC.** Antibodies define multiple proteins with epitopes exposed on the surface of live *Babesia bigemina* merozoites. *Journal of Immunology* 1987, 138(7), 2298-2304.

**McGuire TC, Musoke AJ, Kurtti T.** Functional properties of bovine IgG1 and IgG2: interaction with complement, macrophages, neutrophils and skin. *Immunology* 1979, 38(2), 249-256.

**McHardy N, Haigh AJB, Dolan TT.** Chemotherapy of *Theileria parva* infection. *Nature* 1976, 261, 698-699.

**McHardy N, Wekesa LS, Hudson AT, Randall AW.** Antitheilerial activity of BW720C (buparvaquone): a comparison with parvaquone. *Research in Veterinary Science* 1985, 39, 29-33.

**McLaughlin GL, Edlind TD, Ihler GM.** Detection of *Babesia bovis* using DNA hybridization. *The Journal of Protozoology* 1986, 33(1), 125-128.

**Meeusen E, Lloyd S, Soulsby EJ.** *Babesia microti* in mice: adoptive transfer of immunity with serum and cells. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science* 1984, 62(5), 551-566.

**Mehlhorn H, Peters W, Haberkorn A.** The formation of kinetes and oocysts in *Plasmodium gallinaceum* and considerations on phylogenetic relationships between Haemosporidia, Piroplasmida, and other Coccidia. *Protistologica* 1980, 16, 135-154.

**Mehlhorn H, Schein E.** The piroplasms: life cycle and sexual stages. *Advances in Parasitology* 1984, 23, 37-103.

**Mehlhorn H, Weber G, Schein E, Büscher G.** Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Entwicklungsstadien von *Theileria annulata* im Darm und in der Hamolymphe von *Hyalomma anatolicum excavatum*. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 1975, 48, 137-150.

**Mehlhorn H.** Babesiosis. Encyclopedia of parasitology. 3rd ed. Vol.1, Springer, 2008b, 143-155.

**Mehlhorn H.** Theileriosis. Encyclopedia of parasitology, (3rd ed), Vol.2, Springer, 2008a, 1361-1372.

**Merdivenci A.** Türkiye keneleri üzerine araştırmalar. 1. Baskı. Kutulmuş Matbaası, İstanbul, 1969, 420.

**Mimioğlu M.** Samsun, Ordu, Giresun ve Bolu vilayetlerinde *Haematuria vesicalis bovis*'li sığırlarda parazitolojik araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1955, 2, 183-192.



**Mimioğlu M, Göksu K, Sayın F.** Piroplasmida, Veteriner ve Tıbbi Protozooloji II. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 1969,248, 880-980.

**Minami T, Ishihara T.** *Babesia ovata* sp. n. isolated from cattle in Japan. *National Institute of Animal Health Quarterly* 1980, 20, (3), 101-113.

**Miranda J, Bakheit MA, Liu Z, Yin H, Mu Y, Guo S, Beyer D, Oliva A, Ahmed JS, Seitzer U.** Development of a recombinant indirect ELISA for the diagnosis of *Theileria sp. (China)* infection in small ruminants. *Parasitology Research* 2006, 98, 561-567.

**Mirzaei M.** Treatment of natural tropical theileriosis with the extract of the plant *Peganum harmala*. *Korean Journal of Parasitology* 2007, 45(4), 267-271.

**Mital J, Ward GE.** Current and emerging approaches to studying invasion in apicomplexan parasites. In: Burleigh BA, Soltadi-Favre D (eds). *Molecular Mechanisms of Parasite Invasion, Subcellular Biochemistry Vol47*, Springer, New York, USA, 2008, 1-32.

**Morel PC, Uilenberg G.** The nomenclature of some species (Sporozoa, Babesioidea) of domestic ruminants. *Revue d'élevage et de Médecine Veterinaire des pays Tropicaux* 1981, 34(2), 139-143.

**Mori Y, Nagamine K, Tomita N, Notomi T.** Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2001, 289(1), 150-154.

**Morrison WI, McKeever DJ.** Current status of vaccine development against *Theileria* parasites. *Parasitology* 2006, 133, 169-187.

**Morzaria SP, Brocklesby DW, Harradine DL.** Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for *Babesia major* and *Theileria mutans* in Britain. *The Veterinary Record* 1977, 100(23), 484-487.

**Morzaria SP, Hassan Mustafa UM, Elshawgi MH, Pedersen V, Osman AM.** Isolation, identification and transmission of *Theileria mutans* in Northern Sudan. In: *Advances in the Control of Theileriosis: Proceedings of an International Conference held at ILRAD, Nairobi, 9-13 February, 1981*. A.D. Irvin, M.P. Cunningham and A.S. Young, Martinus Nijhoff (eds), 1981, 166-169.

**Morzaria S, Katende J, Kairo A, Nene V, Musoke A.** New methods for the diagnosis of *Babesia bigemina* infection. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1992, 87(3), 201-205.

**Morzaria SP, Katende J, Musoke A, Nene V, Skilton R, Bishop R.** Development of sero-diagnostic and molecular tools for the control of important tick-borne pathogens of cattle in Africa. *Parassitologia* 1999, 41, 73-80.

**Mosqueda J, Olvera-Ramírez A, Aguilar-Tipacamú G, Cantó GJ.** Current advances in detection and treatment of babesiosis. *Current Medicinal Chemistry* 2012, 19, 1504-1518.

**Muller H, Aysul N, Liu Z, Salih DA, Karageç T, Beyer D, Kullmann B, Ahmed JS, Seitzer U.** Development of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid diagnosis of *Babesia canis* infections. *Transboundary and Emerging Diseases* 2010, 57(1-2), 63-65.

**Muz MN, Öztürk AS, Karakavuk M.** Dokuz Günlük Erkek Buzağında Akut Babeziozis. *Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi* 2013, 3(1), 55-57.

**Nagore D, Garcia-Sanmartin J, Garcia-Perez AL, Juste RA, Hurtado A.** Identification, genetic diversity and prevalence of *Theileria* and *Babesia* species in a sheep population from Northern Spain. *International Journal for Parasitology* 2004, 34, 1059-1067.

**Nakajima R, Tsuji M, Oda K, Zamoto-Niikura A, Wei Q, Kawabuchi-Kurata T, Nishida A, Ishihara C.** *Babesia microti*-group parasites compared phylogenetically by complete sequencing of the CCTeta gene in 36 isolates. *Journal of Veterinary Medical Science* 2009, 71(1), 55-68.

**Nalbantoğlu S.** Çukurova yöresinde Tropikal theileriosise karşı aşılanan sığırlar üzerinde saha çalışmaları. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 1996.

**Namavari M, Hosseini MH, Seghatoleslam A, Lotfi M, Shirazi A and Sparagano OAE.** Study on *Theileria lestoquardi* antigens as potential vaccine candidates. *Annals of New York Academy of Sciences* 2008, 1149, 205-207.

**Ndao Momar.** Diagnosis of parasitic diseases: old and new approaches (review article). *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases* 2009, 1-15.

**Neitz WO.** Classification, transmission and biology of piroplasms of domesticated animals. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1956, 64, 56-111.

**Neitz WO.** Theileriosis, gonderioses and cyauxzoonoses: a review 2 *Theileria annulata* infection. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 1957, 27, 275-346.

**Nene V, Morrison WI.** Approaches to vaccination against *Theileria parva* and *Theileria annulata*. *Parasite Immunology* 2016, 38, 724-734.

**Ngumi PN, Young AS, Lampard D, Mining SK, Ndungu SG, Lesan AC, Williamson SM, Linyonyi A, Kariuki DP.** Further evaluation of the use of buparvaquone in the infection and treatment method of immunizing cattle against *Theileria parva* derived from African buffalo (*Syncerus caffer*). *Veterinary Parasitology* 1992, 43, 15-24.

- Nierlich S.** An ELISA for the serodiagnosis of *Babesia ovis* in sheep. *Infektionskrankheiten bei Schafen*, Tierarztl, Hochsch, Diss, Hannover, 1990, 144.
- Nijhof AM, Pillay V, Steyl J, Prozesky L, Stoltsz WH, Lawrence JA, Penzhorn BL, Jongejan F.** Molecular characterization of *Theileria* species associated with mortality in four species of African antelopes. *Journal of Clinical Microbiology* 2005, 43(12), 5907-5911.
- Nikolskii SN, Nikiforenko VI, Pozov SA.** Epidemiology of piroplasmosis in Siberia (with reference to *Babesia jakimovi* in cattle). *Veterinariya*, Moscow, 1977, 4, 71-75.
- Nilsson O, Nordkvist M, Ryden L.** Experimental *Babesia divergens* infection in reindeer (*Rangifer tarandus*). *Acta Veterinaria Scandinavica* 1965, 6, 353-359.
- Niu Q, Luo J, Guan G, Liu Z, Ma M, Liu A, Gao J, Ren Q, Li Y, Qiu J, Yin H.** Differentiation of two ovine *Babesia* based on the ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences. *Experimental Parasitology* 2009, 121(1), 64-68.
- Niu Q, Liu Z, Yu P, Yang J, Abdallah MO, Guan G, Liu G, Luo J, Yin H.** Genetic characterization and molecular survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Babesia ovata* in cattle, dairy cattle and yaks in China. *Parasites and Vectors* 2015, 8, 518.
- Norval RAI, Perry BD, Young AS.** The Epidemiology of Theileriosis in Africa. London, Academic Press, 1992, 68-84.
- Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T.** Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research* 2000, 28(12), 63.
- O'Donoghue PJ, Friedhoff KT, Vizcaino OG, Weyreter H.** The detection of IgM and IgG antibodies against *Babesia bigemina* in bovine sera using semi-defined antigens in enzyme immunoassays. *Veterinary Parasitology* 1985, 18(1), 1-12.
- Olmeda AS, Armstrong PM, Rosenthal BM, Valladares B, del Castillo A, de Armas F, Miguelez M, González A, Rodríguez Rodríguez JA, Spielman A, Telford SR 3rd.** A subtropical case of human babesiosis. *Acta Tropica* 1997, 67, 229-234.
- Omanwar S, Rao JR, Singh RK, Butchaiah G.** DNA polymorphism in *Trypanosoma evansi* by randomly amplified polymorphic DNA-PCR. *Veterinary Record* 2001, 148, 244-246.
- Orkun Ö, Deniz A, Güven E.** Kırşehir yöresi sığırlarında *Theileria annulata* ve *Theileria buffeli/orientalis* varlığının multiplex-PCR yöntemiyle araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2012, 36 (1), 9-11.
- Orkun Ö, Karaer Z, Çakmak A, Nalbantoğlu S.** Identification of tick-borne pathogens in ticks feeding on humans in Turkey. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 2014, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003067>.

**Öncel T, Vural G, Karaer Z, Çakmak A, Yurtalan S, Öz İ, Erhan ZN, Beyazıt A, Pişkin Ç, Deniz A, Ütük AE, Handemir E, Altınöz F, Kamburgil K, Aytekin H, Kurt M, Aydın İ, Kaya S, Bastem Z, Kalkan Y, Temur A, İçyeroğlu H, İçyeroğlu A, Çaya H, Balkaya İ, Aksın N, Açııcı M.** Türkiye’de sığırlarda *Babesia bovis* ve *B. bigemina*’nın seroprevalansı. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 2010, 37(1), 33-42.

**Özcan HC.** Ankara ve civarında evcil hayvanlarda görülen piroplasmose vakaları ve tedavileri üzerine araştırmalar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 1961, 43, 106.

**Paling RW, Grootenhuis JG, Young AS.** Isolation of *Theileria mutans* from Kenya buffalo and transmission by *Amblyomma gemma*. *Veterinary Parasitology* 1981, 8, 31-37.

**Papadopulos B, Brossard M, Perie NM.** Piroplasm of domestic animals in the Macedonia region of Greece; 3. Piroplasm of small ruminants. *Veterinary Parasitology* 1996, 63(1-2), 67-74.

**Parker RJ, Shepherd RK, Trueman KF, Jones GW, Kent AS, Polkinghorne IG.** Susceptibility of *Bos indicus* and *Bos taurus* to *Anaplasma marginale* and *Babesia bigemina* infections. *Veterinary Parasitology* 1985, 17(3), 205-213.

**Peker G.** Aydın, İzmir, Manisa İllerindeki sığırlarda *Theileria* ve *Babesia* türlerinin Reverse Line Blot Hibridizasyon tekniği ile belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2014, 99-130.

**Persing DH, Mathiesen D, Marshall WF, Telford SR, Spielman A, Thomford JW, Conrad PA.** Detection of *Babesia microti* by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 1992, 30(8), 2097-2103.

**Petrigh R, Ruybal P, Thompson C, Neumann R, Moretta R, Wilkowsky S, Draghi G, Echaide I, de Echaide ST, Farber M.** Improved molecular tools for detection of *Babesia bigemina*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2008, 1149, 155-157.

**Pienaar R, Potgieter FT, Latif AA, Thekiso OMM, Mans BJ.** Geographic distribution of *Theileria sp. (buffalo)* and *Theileria sp. (bougasvlei)* in Cape buffalo (*Syncerus caffer*) in southern Africa: implications for speciation. *Parasitology* 2014, 141, 411-424.

**Pipano E, Weishman Y, Benado A.** The virulence of four local strains of *Theileria annulata*. *Refuah Veterinarith* 1974, 23, 186-194.

**Pipano E.** Vaccination against *Theileria annulata* theileriosis. In: Wright LG, Pres CRC (eds). Cited in *Veterinary Protozoan and Haemoparasite Vaccines*, 1989, 203-234.

**Pipano E.** Observations on the seasonal distribution of blood parasites in sheep in Israel. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 1991, 46(1), 37-38.

**Pipano E.** Vaccines against hemoparasitic diseases in Israel with special reference to quality assurance. *Tropical Animal Health and Production* 1997, 29, 86-90.

**Pipano E, Shkap V.** *Theileria annulata* infection. In: Coetzer JAW, Tustin RC (eds), *Infectious Diseases of Livestock*, Oxford University Press, Oxford, 2006, 486-497.

**Poinar G Jr.** Fossilized mammalian erythrocytes associated with a tick reveal ancient piroplasms. *Journal of Medical Entomology* 2017, 0, 0, 1-6.

**Poyraz Ö, Güneş T.** Sinop yöresinde kırsal kesimde yaşayan insanlarda *Babesia microti* seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2010, 34(2), 81-85.

**Preston PM, Brown CGD, Spooner RL.** Cell mediated cytotoxicity in *Theileria annulata* infection with evidence for BoLA restriction. *Clinical and Experimental Immunology* 1983, 53, 88-100.

**Preston PM, Brown CG.** Inhibition of lymphocyte invasion by sporozoites and the transformation of trophozoite infected lymphocytes in vitro by serum from *Theileria annulata* immune cattle. *Parasite Immunology* 1985, 7(3), 301-314.

**Preston PM, Brown CGD.** Macrophage mediated cytostasis and lymphocyte cytotoxicity in cattle immunised with *Theileria annulata* sporozoites or macroschizont-infected cell lines. *Parasite Immunology* 1988, 10, 631-647.

**Preston PM, Brown CG, Bell-Sakyi L, Richardson W, Sanderson A.** Tropical theileriosis in *Bos taurus* and *Bos taurus* cross *Bos indicus* calves: response to infection with graded doses of sporozoites of *Theileria annulata*. *Research in Veterinary Science* 1992, 53, 230-243.

**Preston PM, Brown CG, Entrican G, Richardson W, Boid R.** Synthesis of tumour necrosis factor-alpha and interferons by mononuclear cells from *Theileria annulata*-infected cattle. *Parasite Immunology* 1993, 15(9), 525-534.

**Preston PM, Hall FR, Glass EJ, Campbell JD, Darghouth MA, Ahmed JS, Shiels BR, Spooner RL, Jongejan F, Brown CG.** Innate and adaptive immune responses co-operate to protect cattle against *Theileria annulata*. *Parasitology Today* 1999, 15(7), 268-274.

**Preston PM, Jongejan F.** Protective immune mechanisms to ticks and tickborne diseases of ruminants. *Parasitology Today* 1999, 15(7), 255-258.

**Preston PM.** Theileriosis. In: The Encyclopedia of Arthropod-transmitted Infections of Man and Domesticated Animals. Service MW (ed), CABI Publishing, 2001, 487-502.

**Pruthi RK, Marshall W, Wiltsie MD, Persing D.** Human babesiosis. *Mayo Clin. Proc.* 1995, 70, 853-862.

**Purnell RE, Hendry DJ, Bidwell DE, Turp P.** Microplate enzyme linked immunosorbent assay for antibody to *Babesia divergens* in cattle. *The Veterinary Record* 1976, 99(6), 102.

**Purnell RE.** Babesiosis in Various Hosts, Ristic M, Kreier JP (eds), Babesiosis, Academic Press, New York, 1981, 25-63.

**Quick RE, Herwaldt BL, Thomford JW, Garnett ME, Eberhard ML, Wilson M, Spach DH, Dickerson JW, Telford SR 3rd, Steingart KR, Pollock R, Persing DH, Kobayashi JM, Juranek DD, Conrad PA.** Babesiosis in Washington State: a new species of *Babesia*? *Annals of Internal Medicine* 1993, 119(4), 284-290.

**Rajendran C, Ray DD.** Diagnosis of tropical bovine theileriosis by ELISA with recombinant merozoite surface protein of *Theileria annulata* (Tams1). *Journal of Parasitic Diseases* 2014, 38(1), 41-45.

**Ramos JA, Alvarez JA, Figueroa JV, Solis J, Rodriguez RI, Hernandez R, Buening GM, Vega CA.** Evaluation of a colorimetric *Babesia bigemina*-DNA probe within an epidemiological survey. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1992, 87(3), 213-217.

**Ramos CA, Araujo FR, Souza II, Bacanelli G, Luiz HL, Russi LS, Oliveira RH, Soares CO, Rosinha GM, Alves LC.** Real-time polymerase chain reaction based on msa2c gene for detection of *Babesia bovis*. *Veterinary Parasitology* 2011, 176(1), 79-83.

**Ravindran R, Rao JR, Mishra AK.** Detection of *Babesia bigemina* DNA in ticks by DNA hybridization using a nonradioactive probe generated by arbitrary PCR. *Veterinary Parasitology* 2006, 141, 181-185.

**Ray HN, Raghavachari K.** Observations on *Babesia foliata n. sp.* from a sheep. *Indian Journal of Veterinary Sciences* 1941, 11, 239-242.

**Razmi GR, Hossieni M, Aslani MR.** Identification of tick vectors of ovine theileriosis in an endemic region of Iran. *Veterinary Parasitology* 2003, 116, 1-6.

**Reddy YA, Rao JR, Butchaiah G, Sharma B.** Random amplified polymorphic DNA for the specific detection of bubaline *Echinococcus granulosus* by hybridization assay. *Veterinary Parasitology* 1998, 79, 315-323.

**Renneker S, Kullmann B, Gerber S, Dobschanski J, Bakheit MA, Geysen D, Shiels B, Tait A, Ahmed JS, Seitzer U.** Development of a competitive ELISA for detection of *Theileria annulata* infection. *Transboundary and Emerging Diseases* 2008, 55, 249-256.

**Renneker S, Abdo J, Ahmed JS, Seitzer U.** Field validation of a competitive ELISA for detection of *Theileria annulata* infection. *Parasitology Research* 2009, 106, 47-53.

**Renneker S, Abdo J, Bakheit MA, Kullmann B, Beyer D, Ahmed J, Seitzer U.** Coinfection of sheep with *Anaplasma*, *Theileria* and *Babesia* species in the Kurdistan Region, Iraq. *Transboundary and Emerging Diseases* 2013, 60(2), 113-118.

**Richardson JO, Forsyth LM, Brown CG, Preston PM.** Nitric oxide causes the macroschizonts of *Theileria annulata* to disappear and host cells to become apoptotic. *Veterinary Research Communications* 1988, 22(1), 31-45.

**Riek RF.** The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Australian Journal of Agricultural Research* 1964, 15, 802-821.

**Riek RF.** The life cycle of *Babesia argentina* (Lignières, 1903) (Sporozoa: Piroplasmidea) in the vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Australian Journal of Agricultural Research* 1966, 17, 247-254.

**Riek RF.** Babesiosis. Weinman D, Ristic M (eds), II. Infectious Blood Diseases of Man and Animals, Academic Press, New York, 1968, 219-268.

**Rijkema SG, Molkenboer MJ, Schouls LM, Jongejan F, Schellekens JF.** Simultaneous detection and genotyping of three genomic groups of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Dutch *Ixodes ricinus* ticks by characterization of the amplified intergenic spacer region between 5S and 23S rRNA genes. *Journal of Clinical Microbiology* 1995, 33(12), 3091- 3095.

**Ristic M, Sibinovic S.** Serologic diagnosis of *Babesia bigemina* infection in cattle by the indirect fluorescent antibody test. *Research in Veterinary Science* 1964, 9, 557.

**Ristic M.** Babesiosis. In: Ristic M, McIntyre I (eds), Diseases of cattle in the tropics, Martinus Nijhoff Publishers, Boston, London, 1981, 443-468.

**Ristic M.** Research on babesiosis vaccines. In: Ristic M, Amrtouse T, Kreier JP (eds). Malaria and Babesiosis. Martinus Nijhoff Publisher, 1984, 103-121.

**Robinson PM.** *Theileria annulata* and its transmission - A review. *Tropical Animal Health and Production* 1982, 14, 3-12.

**Rommel M.** Protozoeninfektionen der Wiederkäuer. In: Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Körting W, Schnieder T (eds), Veterinärmedizinische Parasitologie, 5th ed, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, 2000, 121-191.

**Rosenblatt-Bin H, Klein A, Sredni B.** Antibabesial effect of the immunomodulator AS101 in mice: role of increased production of nitric oxide. *Parasite Immunology* 1996, 18(6), 297-306.

**Ros-García A, M'Ghirbi Y, Bouattour A, Hurtado A.** First detection of *Babesia occultans* in *Hyalomma* ticks from Tunisia. *Parasitology* 2011, 138, 578–582.

**Ros-García A, García-Pérez AL, Verdera J, Juste RA, Hurtado A.** Monitoring piroplasms infection in three cattle farms in Minorca (Balearic Islands, Spain) with previous history of clinical piroplamosis. *Veterinary Parasitology* 2012, 190(3-4), 318-25.

**Rowlands GJ, Musoke AJ, Morzaria SP, Ballingal KT, McKeever DJ.** A statistically derived index for classifying East Coast fever reactions in cattle challenged with *Theileria parva* under experimental conditions. *Parasitology* 2000, 120, 371-381.

**Rudzinska MA.** Ultrastructure of intraerythrocytic *Babesia microti*, with emphasis on the feeding mechanism. *Journal of Protozoology*, 1976, 23, 224-233.

**Rudzinska MA, Spielman A, Riek RF, Lewengrub SJ, Piesman J.** Intraerythrocytic “gametocytes” of *Babesia microti* and their maturation in ticks. *Canadian Journal of Zoology* 1979, 57, 424-434.

**Rudzinska MA, Spielman A, Lewengrub S, Trager W, Piesman J.** Sexuality in piroplasms as revealed by electron microscopy in *Babesia microti*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 1983a, 80, 2966-2970.

**Rudzinska MA, Lewengrub S, Spielman A, Piesman J.** Invasion of *Babesia microti* into epithelial cells of the tick gut. *Journal of Protozoology* 1983b, 30, 338-346.

**Ruebush MJ, Hanson WL.** Transfer of immunity to *Babesia microti* of human origin using T lymphocytes in mice. *Cellular Immunology* 1980, 52(2), 255-265.

**Russell RC, Otranto D, Wall RL.** The Encyclopedia of Medical and Veterinary Entomology. CABI, 2013, 351-355.

**Saiki RK, Chang CA, Levenson CH, Warren TC, Boehm CD, Kazazian HH Jr, Erlich HA.** Diagnosis of sickle cell anemia and betathalassemia with enzymatically amplified DNA and nonradioactive allelespecific oligonucleotide probes. *The New England Journal of Medicine* 1988, 319(9), 537-541.

**Salih DA, El Hussein AM, Singla LD.** Diagnostic approaches for tick-borne haemoparasitic diseases in livestock. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Sciences* 2015, 7(2), 45-56.



**Saraylı H, İnci A, İça A, Yıldırım A, Düzlü Ö.** Yeşilhisar yöresindeki koyun ve keçilerde *Babesia* etkenlerinin Reverse Line Blotting (RLB) yöntemiyle araştırılması. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2006, 15(3), 181-188.

**Sarwar SM.** A hitherto undescribed piroplasm of goats (*Piroplasma taylori*). *Indian Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandary* 1935, 5, 171-176.

**Sato M, Kamio T, Kawazu S, Taniguchi T, Minami T, Fujisaki K.** Histological observations on the schizonts in cattle infected with Japanese *Theileria sergenti*. *Journal of Veterinary Medical Science* 1993, 55(4), 571-574.

**Sayın F, Friedhoff KT, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A.** Ankara yöresi sığırlarında kan parazitlerinin sero-insidensi üzerine araştırmalar. Türk Veteriner Hekimleri I. Bilim Kongresi, Bildiri özetleri, Tebliğ no:103, 26-29 Eylül, İstanbul, 1989.

**Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Eren H, Yukarı BA, Kırvar E.** Studies on tropical theileriosis in Turkey. In: Dolan TT (ed), Recent developments in the research and control of *Theileria annulata*: Proceedings of a Workshop Held at ILRAD, Nairobi, Kenya, 17-19 Eylül, 1990, 23-28.

**Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Brown CGD.** Epidemiological study on tropical theileriosis around Ankara. 150 years of Veterinary Education, Proceedings, 24-31 May 1992, Ankara, 1994.

**Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Friedhoff KT, Müller I.** Studies of sero-prevalance *Babesia* infection of cattle in Turkey. In: Özcel MA (ed), New Dimensions. *Parasitology* 1996, 20(1), 505-516.

**Sayın F, Dinçer Ş, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Vatanserver Z, Nalbantoğlu S, Deniz A.** Tick-borne diseases in Turkey. *Tropical Animal Health and Production* 1997a, 29, 53.

**Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, Yukarı BA, Eren H, Değer S, Nalbantoğlu S.** Status of tick-borne diseases in sheep and goats in Turkey. *Parasitologia* 1997b, 39, 153-156.

**Sayın F, Dinçer S, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Nalbantoglu S, Vatanserver Z.** Türkiye'de tropikal theileriosis üzerine araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2000, 47 (1), 1- 11.

**Sayın F, Dinçer S, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı B A, Eren H, Vatanserver Z, Nalbantoglu S.** Studies on the Epidemiology of Tropical Theileriosis (*Theileria annulata* Infection) in Cattle in Central Anatolia, Turkey. *Tropical Animal Health and Production* 2003a, 35(6), 521-539.

**Sayın F, Karaer Z, Dincer S, Cakmak A, Inci A, Yukarı BA, Eren H, Vatanserver Z, Nalbantoğlu S, Melrose TR.** A comparison of susceptibilities to infection of four species of *Hyalomma* ticks with *Theileria annulata*. *Veterinary Parasitology* 2003b, 113, 115-121.

**Sayın F, Nalbantoğlu S, Karaer Z, Çakmak A, Dinçer Ş, Vatanserver Z, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Günay M, Onar E, Alp H.** Türkiye'de tropikal theileriosis üzerine araştırmalar. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2004, 28, 963-971.

**Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, Zeybek H, DüNDAR B, Nalbantoğlu S, Vatanserver Z, Yaralı C, Deniz A.** Sığırlarda tropikal theileriosis üzerine epidemiyolojik araştırmalar. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 2005, 16(1-2), 43-55.

**Sayın F, Nalbantoğlu S, Yukarı BA, Çakmak A, Karaer Z.** Epidemiological studies on sheep and goat *Theileria* infection. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2009, 56, 127-129.

**Schein E, Büscher G, Friedhoff KT.** Light microscopic studies on the development of *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) in *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844). I. The development in the gut of engorged nymphs. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 1975, 48, 123-136.

**Schein E, Friedhoff KT.** Light microscopic studies on the development of *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) in *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844). II. The development in haemolymph and salivary glands. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 1978, 56, 287-303.

**Schein E, Voigt WP.** Chemotherapy of bovine theileriosis with halofuginone. *Acta Tropica* 1979, 36, 391-394.

**Schein E, Rehbein G, Voigt WP, Zwegarth E.** *Babesia equi* (Laveran 1901) 1. Development in horses and in lymphocyte culture. *Tropenmedizin und Parasitologie* 1981, 32, 223-227.

**Schmidt GD, Roberts LS, Janovy J, Jr.** Foundations of Parasitology, 8th ed, McGraw-Hill International Edition, 2010, 169-171.

**Schneider I, Haller D, Seitzer U, Beyer D, Ahmed JS.** Molecular genetic characterization and subcellular localization of a putative *Theileria annulata* membrane protein. *Parasitology Research* 2004, 94, 405-415.

**Schneider I, Haller D, Kullmann B, Beyer D, Ahmed JS, Seitzer U.** Identification, molecular characterization and subcellular localization of a *Theileria annulata* parasite protein secreted into the host cell cytoplasm. *Parasitology Research* 2007, 101, 1471-1482.

**Schnittger L, Yin H, Jianxun L, Ludwig W, Shayan P, Rahbari S, Voss-Holtmann A, Ahmed JS.** Ribosomal smallsubunit RNA gene-sequence analysis of *Theileria lestoquardi* and a *Theileria* species highly pathogenic for small ruminants in China. *Parasitology Research* 2000a, 86, 352-358.

**Schnittger L, Shayan P, Biermann R, Mehlhorn H, Gerdes J, Ahmed JS.** Molecular genetic characterization and subcellular localization of *Theileria annulata* mitochondrial heat-shock protein 70. *Parasitology Research* 2000b, 86, 444-452.

**Schnittger L, Katzer F, Biermann R, Shayan P, Boguslawski K, Mckellar S, Beyer D, Shiels BR, Ahmed JS.** Characterization of a polymorphic *Theileria annulata* surface protein (TaSP) closely related to PIM of *Theileria parva*: implications for use in diagnostic tests and subunit vaccines. *Molecular and Biochemical Parasitology* 2002, 120, 247-256.

**Schnittger L, Yin H, Gubbels MJ, Beyer D, Niemann S, Jongejan F, Ahmed JS.** Phylogeny of sheep and goat *Theileria* and *Babesia* parasites. *Parasitology Research* 2003, 91, 398-406.

**Schnittger L, Yin H, Qi B, Gubbels MJ, Beyer D, Niemann S, Jongejan F, Ahmed JS.** Simultaneous detection and differentiation of *Theileria* and *Babesia* parasites infecting small ruminants by reverse line blotting. *Parasitology Research* 2004, 92, 189-196.

**Sergent E, Donatien A, Parrot L, Lestoquard F.** Etudes sur les piraplasmes bovines, Institut Pasteur d'Algerie, Algiers, 1945.

**Sevinç F, Dik B.** Konya yöresindeki koyunlarda *B. ovis*'in ELISA ile teşhisi. *Veteriner Bilimleri Dergisi* 1996, 12(2), 73-79.

**Sevgili M, Çakmak A, Gökçen A, Atlas M G, Ergun G.** Prevalance of *Theileria annulata* and *Babesia bigemina* in cattle in the vicinity of Şanlıurfa. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2010, 9 (2), 292-296.

**Sevinç F, Sevinç M, Birdane FM, Altınöz F.** Prevalence of *Babesia bigemina* in cattle. *Revue de Medecine Veterinaire* 2001, 152( 5), 395-398.

**Sevinç F, Özdemir Ö, Coşkun A.** On bir günlük bir buzağda akut babesiosis. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2005, 2(2), 131-135.

**Sevinç F, Güler L, Sevinç M, Ekici ÖD, Işık N.** Determination of immunoreactive proteins of *Babesia ovis*. *Veterinary Parasitology* 2013, 198, 391-395.

**Sevinç F, Sevinç M, Koç Y, Alkan F, Ekici ÖD, Yıldız R, Işık N, Aydoğdu U.** The effect of 12 successive blood passages on the virulence of *Babesia ovis* in splenectomized lambs: A preliminary study. *Small Ruminant Research* 2014, 116, 66-70.

**Sevinç F, Cao S, Xuan X, Sevinç M, Ceylan O.** Identification and expression of *Babesia ovis* secreted antigen 1 and evaluation of its diagnostic potential in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology* 2015, 53(5),1531-1536.

**Sevinç F, Xuan X.** Major tick-borne parasitic diseases of animals: A frame of references in Turkey. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences* 2015, 31(3), 132-142.

**Shah-Fischer M, Say RR.** Manual of tropical veterinary parasitology. Wallingford. C.A.B. Int. 1989.

**Shaw MK, Tilney LG, Musoke AJ.** The entry of *Theileria parva* sporozoites into bovine lymphocytes: evidence for MHC class I involvement. *Journal of Cell Biology* 1991, 113(1), 87-101.

**Shaw MK, Tilney LG.** How individual cells develop from a syncytium: merogony in *Theileria parva* (Apicomplexa). *Journal of Cell Science* 1992, 101(1), 109-123.

**Shaw MK.** The same, but different: the biology of *Theileria* sporozoite entry into bovine cells. *International Journal of Parasitology* 1997, 27, 457-474.

**Shaw MK.** Cell invasion by *Theileria* sporozoites. *Trends in Parasitology* 2003, 19(1), 2-6.

**Shiels BR, Smyth A, Dickson J, McKellar S, Tetley L, Fujisaki K, Hutchinson B, Kinaird JH.** A stoichiometric model of stage differentiation in the protozoan parasite *Theileria annulata*. *Molecular and Cellular Differentiation* 1994, 2, 101-125.

**Shiels BR, d'Oliveira C, McKellar S, Ben-Miled L, Kawazu S, Hide G.** Selection of diversity at putative glycosylation sites in the immunodominant merozoite/piroplasm surface antigen of *Theileria* parasites. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1995, 72(1-2), 149-162.

**Shimada T, Shikano S, Hashiguchi R, Matsuki N, Ono K.** Effects of depletion of T cell subpopulations on the course of infection and anti-parasite delayed type hypersensitivity response in mice infected with *Babesia microti* and *Babesia rodhaini*. *Journal of Veterinary Medical Science* 1996, 58(4), 343-347.

**Shkap V, de Vos AJ, Zweggarth E, Jongejan F.** Attenuated vaccines for tropical theileriosis, babesiosis and heartwater: the continuing necessity. *Trends in Parasitology* 2007, 23, 9, 420-426.

**Shoda LK, Kegerreis KA, Suarez CE, Roditi I, Corral RS, Bertot GM, Norimine J, Brown WC.** DNA from protozoan parasites *Babesia bovis*, *Trypanosoma cruzi*, and *T. brucei* is mitogenic for B lymphocytes and stimulates macrophage expression of interleukin-12, tumor necrosis factor alpha, and nitric oxide. *Infection and Immunity* 2001, 69(4), 2162-2171.

**Singh DK, Thakur M, Raghav PRS, Varshney BC.** Chemotherapeutic trials with four drugs in crossbred calves experimentally infected with *Theileria annulata*. *Research in Veterinary Science* 1993, 54, 68-71.

**Sivakumar T, Tagawa M, Yoshinari T, Ybañez AP, Igarashi I, Ikehara Y, Hata H, Kondo S, Matsumoto K, Inokuma H, Yokoyama N.** PCR Detection of *Babesia ovata* from Cattle Reared in Japan and Clinical Significance of Coinfection with *Theileria orientalis*. *Journal of Clinical Microbiology* 2012, 50(6), 2111–2113.

**Sivakumar T, Lan DT, Long PT, Yoshinari T, Tattiyapong M, Guswanto A, Okubo K, Igarashi I, Inoue N, Xuan X, Yokoyama N.** PCR detection and genetic diversity of bovine hemoprotozoan parasites in Vietnam. *Journal of Veterinary and Medical Sciences* 2013, 75, 1455-1462.

**Sivakumar T, Igarashi I, Yokoyama N.** *Babesia ovata*: Taxonomy, phylogeny and epidemiology. *Veterinary Parasitology* 2016, 15 (229), 99-106.

**Smith T, Kilborne FL.** Investigations into the nature, causation, and prevention of Texas or southern cattle fever. *Bureau of Animal Industry* 1893, 1, 85-114.

**Smyth JD.** Introduction to Animal Parasitology. 3rd ed. Cambridge University Press, 1994, 139-143.

**Snow KR, Arthur DR.** Larvae of the *Ixodes ricinus* complex of species. *Parasitology* 1970, 60, 27–38.

**Soulsby EJJ.** Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7th ed. Bailliere Tindal, 1982, 706-741.

**Sparagano OA, Carelli G, Ceci L, Shkap V, Molad T, Vitale F, Loria GR, Reale S, Caracappa S, Bouattour A, Almeria S, Castella J, Corchero E, Habela M.** Pan-Mediterranean comparison for the molecular detection of *Theileria annulata*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2002, 969(1), 73-77.

**Sparagano OAE, Spitalska E, Namavari M, Torina A, Cannella V, Caracappad S.** Phylogenetics of *Theileria* Species in Small Ruminants. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006, 1081, 505-508.

**Spooner RL, Brown CGD.** Theileriosis and evidence for genetic resistance. In: Owen JB, Axford RFE (eds), *Breeding for Disease Resistance in Farm Animals*. Wallingford, UK, CAB International, 1991, 235- 243.

**Stagg, DA, Kanhai GK, Young AS, Brown CGD.** The establishment of *Theileria* infected cell lines from an eland (*Taurotragus oryx* Lydekkcr, 1906). *Research in Veterinary Science* 1976, 20, 122-126.

**Stewart NP, De Vos AJ, McGregor W, Shiels IA.** Observation on the development of tick-transmitted *Theileria buffeli* (syn. *T. orientalis*?) in cattle. *Research in Veterinary Science* 1988, 44(3), 338-342.

**Stewart NP, De Vos AJ, Shiels IA, McGregor W.** The experimental transmission of *Theileria buffeli* of cattle in Australia a by *Haemaphysalis humerosa*. *Australian Veterinary Journal* 1987, 6(3), 81-83.

**Stewart NP, Vilenberg G, De Vos AJ.** Review of Australian species of *Theileria*, with special reference to *Theileria buffeli* of cattle. *Tropical Animal Health and Production* 1996, 28, 81-90.

**Stockham SL, Kjomtrup AM, Condrad PA, Schmidt DA, Scott MA, Robinson TW, Tyler JW, Jonson GC, Carson CA, Cuddihee P.** Theileriosis in Missiori beef herd caused by *Theileria buffeli*; case report, herd investigation, ultrastructure, phylogenetic analysis, and experimental transmission. *Veterinary Pathology* 2000; 37, 11-21.

**Suarez CE, Palmer GH, Florin-Christensen M, Hines SA, Hotzel I, McElwain TF.** Organization, transcription, and expression of rhopty associated protein genes in the *Babesia bigemina* rap-1 locus. *Molecular and Biochemical Parasitology* 2003, 127(2), 101-112.

**Sugimoto C, Fujisaki K.** Non-transforming *Theileria* parasites of ruminants. In: Dirk AE. Dobbelaere and Declan J. McKeever (edit.). *Word Class Parasites Volume: 3 Theileria*. Boston. Dordrecht. London. Kluwer Academic Publishers, 2002, 93-107.

**Sulaiman EG, Arslan SH, Al-Obaidi QT, Daham E.** Clinical, haematological and biochemical studies of babesiosis in native goats in Mosul. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences* 2010, 24(1), 31-35.

**Şahal M, Kar S, Gazyağcı S, Aktaş MS.** Bir sığırdaki kış mevsiminde Babesiosis ve imidocarb dipropionat ile sağaltımı. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 2009, 4(3), 191-195.

**Taha KM, El Hussein AM.** Experimental transmission of *Theileria lestoquardi* by developmental stages of *Hyalomma anatolicum* ticks. *Parasitology Research* 2010, 107, 1009-1012.

**Taha KM, Salih DA, Ali AM, Ömer RA, El Hussein AM.** Naturally occurring infections of cattle with *Theileria lestoquardi* and sheep with *Theileria annulata* in the Sudan. *Veterinary Parasitology* 2013, 191, 143-145.

**Tanaka M, Onoe S, Matsuba T, Katayama S, Yamanaka M, Yonemichi H.** Detection of *Theileria sergenti* infection in cattle by polymerase chain reaction amplification of parasite-specific DNA. *Journal of Clinical Microbiology* 1993, 31(10), 2565-2569.

**Tanyüksel M, Vatansever Z, Karaer Z, Araz E, Haznedaroğlu T, Yukarı BA, Açııcı M.** Sığır babesiosisinin epidemiyolojisi ve zoonotik önemi. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Proje No: VHAG-1418, 2002, 1-30.

**Taşçı S.** Van bölgesinde sığır ve koyunlarda görülen kene türleri ile bunların taşıdığı kan parazitleri (Protozoon) arasındaki ilişkiler. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1989, 36(1), 53-63.

**Taylor MA, Coop RL, Wall RL.** *Veterinary Parasitology* 3rd ed, Blackwell Publishing, 2007, 291-314.

**Taylor MA, Coop RL, Wall RL.** *Veterinary Parasitology* 4th ed, Blackwell Publishing, 2016, 150-154.

**Telford SR, Gorenflot A, Brasseur P, Spielman A.** Babesial infections in humans and wildlife. In: Kreier JP (ed.), *Parasitic Protozoa*, Vol.5, Academic Press, New York, 1993, 1-47.

**Telford SR, Goethert HK.** Emerging tick-borne infections: rediscovered and better characterized, or truly 'new'? *Parasitology* 2004, 129, 301-327.

**Tian Z, Du J, Yang J, Liu A, Liu X, Liu G, Yin H.** A PCR-RFLP Assay targeting RPS8 gene for the discrimination between bovine *Babesia* and *Theileria* species in China. *Parasites and Vectors* 2015, 8, 475.

**Todorovic RA.** Serologic diagnosis of babesiosis. *Tropical Animal Health and Production* 1975, 7(1) 1-14.

**Todorovic RA, Carson CA.** Methods for Measuring the immunological response to *Babesia*. In: Ristic M, Kreier JP (eds). *Babesiosis*. Academic Press, New York, 1981, 381-410.

**Tonbak S, Aktaş M, Altay K, Azkur AK, Kalkan A, Bolat Y, Dumanlı N, Özdarendeli A.** Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: genetic analysis and tick survey in Turkey. *Journal of Clinical Microbiology* 2006, 44(11), 4120-4124.

**Torres FD, Alves LC, Uilenberg G.** Babesiosis. In: Marcondes CB (ed). Arthropod Borne Diseases. Springer Switzerland, 2017, 347-354.

**Tuncer D, Mutlu G, Karaer Z, Sayın F, Tuncer LB.** Seasonal occurrence of ticks on goats and *Borrelia burgdorferi* influence in *Ixodes ricinus* in Antalya region. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2004, 28,158-160.

**Tüzer E.** İstanbul ili ve çevresinde sığırlarda görülen *Babesia*, *Theileria* ve *Anaplasma* türleri ve bunlarda oluşan enfeksiyonların yayılışı üzerinde araştırma. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi 1980.

**Uilenberg G.** Diagnosis of *Babesia argentina* infection in cattle using brain smears. *Australian Veterinary Journal* 1972, 48(9), 534.

**Uilenberg G, Andreasen MP.** *Haematoxenus separatus* sp. n. (Sporozoa, Theileriidae), a new blood parasite of domestic sheep in Tanzania. *Revue d' Elevage et de Medecin Veterinaire de Pays Tropicaux* 1974, 27, 459-465.

**Uilenberg G, Schreuder BEC.** Studies on Theileriidae (Sporozoa) in Tanzania. Tick transmission of *Haematoxenus veliferus*. *Tropenmedizin und Parasitologie* 1976, 25, 217-216.

**Uilenberg G, Perie NM, Lawrence JA, de Vos AJ, Paling RW, Spanjer AAM.** Causal agents of bovine theileriosis in South Africa. *Tropical Animal Health and Production* 1982, 14, 127-140.

**Uilenberg G, Robson J, Pedersen V.** Some experiments on the transmission of *Theileria mutans* (Theiler, 1906) and *Theileria parva* (Theiler, 1904) by the ticks *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1794) and *Rhipicephalus appendicularis* (Neumann, 1901) in Uganda. *Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie* 1974, 25, 207-216.

**Uilenberg G.** *Haematoxenus veliferus*, n. g., n. sp, parasite incertae sedis du sang de bovins a Madagascar. *Revue d'Elevage et de Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux* 1964, 17, 655-662.

**Uilenberg G.** Tick-borne livestock diseases and their vectors. 2. Epizootiology of tickborne diseases. *World Animal Review* 1976, 17, 8-15.

**Uilenberg G, Rombach MC, Perie NM, Zwart D.** Blood parasites of sheep in the Netherlands. II. *Babesia motasi* (Sporozoa, Babesiidae). *Veterinary Quarterly* 1980, 2, 3-14.

**Uilenberg G.** Theilerial species of domestic livestock, in Advances in the Control of Theileriosis. In: Irvin AD, Cunningham MP, Young AS (eds), Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, Boston, London, 1981, 4-37.



**Uilenberg G.** International collaborative research: significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health. *Veterinary Parasitology* 1995, 57, 19-41.

**Uilenberg G.** Babesiosis. In: The Encyclopedia of Arthropod-transmitted Infections of Man and Domesticated Animals. Service MW (ed), CABI Publishing, 2001, 53-60.

**Uilenberg G.** *Babesia*. A historical overview. *Veterinary Parasitology* 2006, 138, 3-10.

**Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW.** *Veterinary Parasitology*. 2nd ed. Blackwell Publishing, Harlow, 1996, 242-250.

**Ünlü AH.** Rekombinasyon sonrası *Theileria annulata* popülasyonlarındaki genetik ve antijenik çeşitlilik. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2014.

**Vannier E, Krause PJ.** Update on Babesiosis. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases* 2009, 9.

**Vatansever Z, Nalbantoğlu S, Deniz A, Çizmeçi ŞG.** Sığırlarda bulunan *Theileria* ve *Babesia* türlerinin reverse line blotting tekniği ile eşzamanlı teşhisi, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Proje No: VHAG-1640, 2002, 1-17.

**Vatansever Z, Nalbantoğlu S.** Sahada *Theileria annulata* ile enfekte sığırların nested PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), IFA (İndirekt Floresan Antikor) testi ve kan frotisi bakışı ile saptanması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2002, 26, 1465-1469.

**Vercammen F, De Deken R, Maes L.** Clinical and serological observations on experimental infections with *Babesia canis* and its diagnosis using the IFAT. *Parasite* 1995, 2(4), 407-410.

**Verdida RA, Xuan X, Fukumoto S, Huang X, Zhou J, Igarashi I, Claveria FG, Nagasawa H.** Development of a practical immunochromatographic test with recombinant P50 for the diagnosis of *Babesia gibsoni* infection in dogs. *Parasitology* 2005, 131(6), 769-774.

**Vial HJ, Gorenflot A.** Chemotherapy against babesiosis. *Veterinary Parasitology* 2006, 138(1-2), 147-160.

**Visser AE, Abraham A, Sakyi LJ, Brown CG, Preston PM.** Nitric oxide inhibits establishment of macroschizont-infected cell lines and is produced by macrophages of calves undergoing bovine tropical theileriosis or east coast fever. *Parasite Immunology* 1995, 17(2), 91-102.

**Wagner G, Cruz D, Holman P, Waghela S, Perrone J, Shompole S, Rurangirwa F.** Non-immunologic methods of diagnosis of babesiosis. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 1992, 87(III), 193-199.

**Walter G, Weber G.** A study on the transmission (transstadial, transovarial) of *Babesia microti*, strain “Hannover i,” in its tick vector, *Ixodes ricinus*. *Tropenmedizin und Parasitologie* 1981, 32, 228-230.

**Waltisbuhl DJ, Goodger BV, Wright IG, Commins MA, Mahoney DF.** An enzyme linked immunosorbent assay to diagnose *Babesia bovis* infection in cattle. *Parasitology Research* 1987, 73(2), 126-131.

**Web\_1.** <https://biruni.tuik.gov.tr/hayvancilikapp/hayvancilik.zul> (25. 07. 2017).

**Web\_2.** (2017). The Taxonomicon. <http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?id=1315&src=0> (03. 02. 2017).

**Web\_3.** (2017). The Taxonomicon. <http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?id=1352&src=0> (03. 02. 2017).

**Weber G.** Ultrastrukturen und cytochemia der pellikula und des apicalkomplexes der kineten von *Babesia bigemina* und *B. ovis* in Hamolymphe und ovar von zecken. *Journal of Protozoology* 1980, 27, 59-71.

**Weigl B, Domingo G, Labarre P, Gerlach J.** Towards non- and minimally instrumented, microfluidics-based diagnostic devices. *Lab on a chip* 2008, 8(12), 1999-2014.

**Weiland G.** Species-specific serodiagnosis of equine piroplasma infections by means of complement fixation test (CFT), immunofluorescence (IIF), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Veterinary Parasitology* 1986, 20(1-3), 43-48.

**Weir W, Ben Miled L, Karagenc T, Katzer F, Darghouth M, Shiels B, Tait A.** Genetic exchange and sub-structuring in *Theileria annulata* populations. *Molecular and Biochemical Parasitology* 2007, 154, 170-180.

**Wenshun L, Hong Y.** Bovine and ovine theileriosis in China and its immune prophylaxis. European Union third Coordination Meeting on Tropical Theileriosis, Temmuz, 7-10, Antalya-Turkey, 1994.

**Willadsen P.** Anti-tick vaccines. *Parasitology* 2004, 129, 367-387.

**Williamson S, Tait A, Brown D, Walker A, Beck P, Shiels B, Fletcher J, Hall R.** *Theileria annulata* sporozoite surface antigen expressed in *Escherichia coli* elicits neutralizing antibody. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1989, 86(12), 4639-4643.

**Wongsrichanalai C, Barcus MJ, Muth S, Sutamihardja A, Wernsdorfer WH.** A review of malaria diagnostic tools: microscopy and rapid diagnostic test (RDT). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2007, 77(6), 119-127.

**Wright IG.** The probable role of *Babesia argentina* esterase in the in vitro activation of plasma prekallikrein. *Veterinary Parasitology* 1975, 1(1), 91-96.

**Wright IG, Kerr JD.** Effect of trasylol on packed cell volume and plasma kallikrein activation in acute *Babesia argentina* infection of splenectomised calves. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 1975, 46(3), 189-194.

**Wright IG, Goodger BV.** Pathogenesis of Babesiosis. In: Ristic M (ed), *Babesiosis of Domestic Animals and Man*. Boca Raton Florida, CRC Press, 1988, 99-118.

**Yabsley MJ, Shock BC.** Natural history of zoonotic *Babesia*: role of wildlife reservoirs. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 2012, 2, 18-31.

**Yang Y, Mao Y, Kelly P, Yang Z, Luan L, Zhang J, Li J, El-Mahallawy HS, Wang C.** A pan-*Theileria* FRET-qPCR survey for *Theileria* spp. in ruminants from nine provinces of China. *Parasites and Vectors* 2014, 7, 413.

**Yavuz A, İnci A, Düzlü Ö, Bişkin Z, Yıldırım A.** *Babesia bovis*'in msa-2c geninin moleküler karakterizasyonu. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 2011, 35, 140-144.

**Yay M, Yazar S, Aydın L, Şahin İ.** Kayseri yöresinde sığır ve koyunlarda kene türlerinin araştırılması. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004, 13(2), 25-29.

**Yıldırım A, Düzlü Ö, İnci A, Önder Z, Çiloğlu A.** Sığırlarda *Babesia bovis* ve *Babesia bigemina*'nın Reverse Line Blotting, Nested PCR ve Real Time PCR teknikleri ile karşılaştırmalı tanısı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2013, 19 (5), 895-902.

**Yılmaz AB, Değer MS.** Van ve Erciş yöresindeki sığır ve koyunlarda kene türlerinin belirlenmesi ve mevsimsel dağılımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2011, 22(3), 133-137.

**Yin H, Luo J, Guan G, Lu B, Ma M, Zhang Q, Lu W, Lu C, Ahmed J.** Experiments on transmission of an unidentified *Theileria* sp. to small ruminants with *Haemaphysalis qinghaiensis* and *Hyalomma anatolicum anatolicum*. *Veterinary Parasitology* 2002a, 108(1), 21-30.

**Yin H, Luo J, Guan G, Gao Y, Lu B, Zhang Q, Ma M, Lu W, Lu C, Yuan Z, Guo S, Wang B, Du H, Schnittger L, Ahmed J, Jongejan F.** Transmission of an unidentified *Theileria* species to small ruminants by *Haemaphysalis qinghaiensis* ticks collected in the field. *Parasitology Research* 2002b, 88(1), 25-27.

**Yin H, Luo J, Schnittger L, Lu B, Beyer D, Ma M, Guan G, Bai Q, Lu C, Ahmed J.** Phylogenetic analysis of *Theileria* species transmitted by *Haemaphysalis qinghaiensis*. *Parasitology Research* 2004, 92,36-42.

**Yin H, Luo J.** Ticks of small ruminants in China. *Parasitology Research* 2007, 101(2), 187-189.

**Yin H, Schnittger L, Luo J, Seitzer U, Ahmed JS.** Ovine theileriosis in China: a new look at an old story. *Parasitology Research* 2007, 101(2), 191-195.

**Yin H, Liu Z, Guan G, Liu A, Ma M, Ren Q, Luo J.** Detection and differentiation of *Theileria luwenshuni* and *T. uilenbergi* infection in small ruminants by PCR. *Transboundary and Emerging Diseases* 2008, 55(5-6), 233-237.

**Yokoyama N, Okamura M, Igarashi I.** Erythrocyte invasion by *Babesia* parasites: current advances in the elucidation of the molecular interactions between the protozoan ligands and host receptors in the invasion stage. *Veterinary Parasitology* 2006, 138(1-2), 22-32.

**Yoshinari T, Sivakumar T, Asada M, Battsetseg B, Huang X, Lan DT, Inpankaew T, Ybañez AP, Alhassan A, Thekiso OM, De Macedo AC, Inokuma H, Igarashi I, Yokoyama N.** A PCR based survey of *Babesia ovata* in cattle from various Asian, African and South American countries. *Journal of Veterinary Medical Science* 2013, 73(2), 211-214.

**Young AS, Mutugi JJ, Kariuki DP, Lampard D, Maritim AC, Ngumi PN, Linyonyi A, Leitch BL, Ndungu SG, Lesan AC.** Immunisation of cattle against theileriosis in Nakuru District of Kenya by infection and treatment and the introduction of unconventional tick control. *Veterinary Parasitology* 1992, 42, 225-240.

**Young AS, Mchinja JJ.** Observations on *Haematoxenus separatus* (Uilenberg and Adreasen 1974) in the erythrocytes of Kenyan sheep. *Research in Veterinary Science* 1977, 23, 387-388.

**Young AS, Burridge MJ, Payne RC.** Transmission of a *Theileria* species to cattle by the ixodid tick *Amblyomma cohaerens* Donitz, 1909. *Tropical Animal Health and Production* 1977a, 9, 37-45.

**Young AS, Grootenhuis JG, Kimber CD, Kanhai GK, Stagg DA.** Isolation of a *Theileria* species from eland (*Taurotragus oryx*) infective for cattle. *Tropenmedizin und Parasitologie* 1977b, 28, 185-194.

**Young AS, Purnell RE, Payne RC, Brown CGD, Kanhai GK.** Studies on the transmission and course of infection of a Kenyan strain of *Theileria mutans*. *Parasitology* 1978, 76, 99-115.

**Yukarı BA, Umur Ş.** Burdur yöresindeki sığır, koyun ve keçilerde kene (Ixodoidea) türlerinin yayılışı. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2002, 26, 1263-1270.

**Yukarı BA.** Protozooloji. Akdeniz Üniversitesi Burdur Veteriner Fakültesi Yayını, Ders Notu No: 9, 2004, 120-139.

**Zahler M, Rinder H, Zwegarth E, Fukata T, Maede Y, Schein E, Gothe R.** *Babesia gibsoni* of dogs from North America and Asia belong to different species. *Parasitology* 2000, 120, 365-369.

**Zakian A, Nouri M, Barati F, Kahroba H, Jolodar A, Rashidi F.** Vertical transmission of *Theileria lestoquardi* in sheep. *Veterinary Parasitology* 2014, 203, 322-325.

**Zhou M, Cao S, Sevinç F, Sevinç M, Ceylan O, Ekici S, Jirapattharasate C, Moumouni PF, Liu M, Wang G, Iguchi A, Vudriko P, Suzuki H, Xuan X.** Molecular detection and genetic characterization of *Babesia*, *Theileria* and *Anaplasma* amongst apparently healthy sheep and goats in the central region of Turkey. *Ticks and Tick-borne Diseases* 2016, 8(2), 246-252.

**Zintl A, Mulcahy G, Skerrett HE, Taylor SM, Gray JS.** *Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. *Clinical Microbiology Reviews* 2003, 16(4), 622-636.

**Zintl A, Gray JS, Skerrett HE, Mulcahy G.** Possible mechanisms underlying age-related resistance to bovine babesiosis. *Parasite Immunology* 2005, 27(4), 115-120.

**Zwart D.** Haemoparasitic diseases of bovines. Review. *Revue scientifique et technique, International Office of Epizootics* 1985, 4(3), 447-458.

**Zwegarth E, Just MC, De Waal DT.** In vitro cultivation of *Babesia equi*: detection of carrier animals and isolation of parasites. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 1997, 64, 51-56.

**Zwegarth E, Benade J, Steyl J, Prozesky L, Koekemoer O, Josemans AI.** In vitro cultivation of a *Theileria* species from a roan antelope (*Hippotragus equinus*). *Parasitology Research* 2009a, 105(6), 1755-1757.

**Zwegarth E, Koekemoer O, Josemans AI, Rambritch N, Pienaar R, Putterill J, Latif A, Potgieter FT.** *Theileria*-infected cell line from an African buffalo (*Syncerus caffer*). *Parasitology Research* 2009b, 105(2), 579-581.

## ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : KÖSE, Onur  
Uyruk : T.C.  
Doğum yeri ve tarihi :Isparta, 1984  
Telefon : 0505 3743744  
E-posta : hangionurbuonur@gmail.com  
Yabancı dil : İngilizce

### EĞİTİM

<u>Derece</u> :	<u>Kurum</u> :	<u>Mezuniyet Tarihi</u> :
Doktora	Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Veteriner) Anabilim Dalı	15. 09. 2017
Yüksek Lisans	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Veteriner) Anabilim Dalı	16. 08. 2011
Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	01. 07. 2008

### İŞ DENEYİMİ

<u>Yıl</u> :	<u>Kurum</u> :	<u>Ünvan</u> :
Mayıs 2011-Aralık 2011	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı	Araş. Gör.
Aralık 2011 – Aralık 2017	Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji (Veteriner) Anabilim Dalı	Araş. Gör.