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

KONYA YÖRESİNDE SIĞIRLARDA *BABESİA BİGEMİNA*'NIN SEROEPİDEMİYOLOJİSİ

DOKTORA TEZİ

Özlem DERİNBAY EKİCİ

Danışman

Prof.Dr. Ferda SEVİNÇ

KONYA-2008

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

BAP PROJE NO: 06102003

KONYA YÖRESİNDE SIĞIRLARDA *BABESİA BİGEMİNA*'NIN SEROEPİDEMİYOLOJİSİ

DOKTORA TEZİ

Özem DERİNBAY EKİCİ

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 25/04/2008 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği* ile kabul edilmiştir (S.B.E. Yön. Kur. Karar tarih ve No: .....).

Tez Jürisi:

Jüri başkanı	:	Prof. Dr. Ayşe ÇAKMAK
Danışman	:	Prof. Dr. Ferda SEVİNÇ
Üye	:	Prof. Dr. Bilal DİK
Üye	:	Prof. Dr. Feyzullah GÜÇLÜ
Üye	:	Prof Dr. Mutlu SEVİNÇ

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ..... 1

2. LİTERATÜR BİLGİ..... 3

2.1. Tarihçe..... 4

2.2. *Babesia bigemina*'nın Sistematikteki Yeri..... 7

2.3. Babesia Türlerinin Genel Morfolojileri..... 8

2.4. Babesia Türlerinin Genel Biyolojileri..... 10

2.5. Babesiosisin Endemik Durumu..... 12

2.6. Babesiosisde Bağışıklık..... 16

2.6.1. Doğal bağışıklık..... 17

2.6.2. Kazanılmış bağışıklık..... 20

2.6.2.1. Humoral immun yanıt..... 20

2.6.2.2. Hücresel immun yanıt..... 21

2.6.3. Yaş direnci..... 22

2.6.4. Preimmunisyon..... 22

2.7. Babesiosisin Epidemiyolojisi..... 23

2.8. Babesiosisin Semptomları..... 25

2.9. Babesiosisin Patolojisi..... 27

2.10. Babesiosisin Teşhisi..... 28

2.10.1. Klinik teşhis..... 28

2.10.2. Mikroskobik teşhis..... 29

2.10.3. Serolojik teşhis..... 30

2.11. Babesiosisin Tedavisi..... 39

2.11.1. Aromatik Diamidinler (Diminazen aceturate)..... 40

2.11.2. Imidocarb dipropionate (IMDP)..... 40

2.12. Babesiosisden Korunma ve Kontrol..... 41

3. MATERYAL ve METOT..... 49

3.1. Çalışma Merkezlerinin Seçimi ve Örnek Toplama..... 49

3.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler..... 50

3.3. Kimyasal Maddeler ve Solüsyonlar..... 50

3.4. Laboratuar Çalışmaları..... 51

3.4.1. Testte kullanılan reagentlerin temini..... 51

3.4.2. Konjugat..... 51

3.4.3. IFA testinde kullanılan kontrol maddeleri..... 51

3.5. IFAT' nin Uygulanışı..... 52

3.6. Endemik Yapının Belirlenmesi..... 53

3.7. İstatistiksel Analiz..... 53

4. BULGULAR..... 54

5. TARTIŞMA..... 66

6. SONUÇ..... 76

7. ÖZET..... 77

8.SUMMARY..... 78

9. KAYNAKLAR..... 79

10. ÖZGEÇMİŞ..... 93

11. TEŞEKKÜR..... 94

TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1. Mikroskobik bulgulara göre Konya yöresindeki sığırlarda *B. bigemina*'nın aylara göre dağılımı..... 54

Tablo 4.2. Konya yöresi sığırlarında *B. bigemina*'nın aylara göre dağılımı..... 56

Tablo 4.3. Mikroskobik muayene ve IFAT sonuçlarının karşılaştırılması..... 57

Tablo 4.4. Muayene edilen sığırlarda pozitiflik durumunun yaş gruplarına göre dağılımı.... 59

Tablo 4.5. Farklı yaş gruplarına ait sığırlarda *B. bigemina*'nın inokulasyon oranları..... 60

Tablo 4.6. Konya yöresi sığırlarında toplanan kene türleri ve aylara göre dağılımı..... 61

Tablo 4.7. Nisan 2006 ve Mart 2007 tarihleri arasında Konya Merkez'de tespit edilen ortalama ısı, ortalama yağış ve ortalama nisbi nem değerleri..... 63

Tablo 4.8. Nisan 2006 ve Mart 2007 tarihleri arasında Beyşehir ilçesinde tespit edilen, ortalama ısı, ortalama yağış ve ortalama nisbi nem değerleri..... 63

Tablo 4.9. Nisan 2006 ve Mart 2007 tarihleri arasında Çumra ilçesinde tespit edilen, ortalama ısı, ortalama yağış ve ortalama nisbi nem değerleri..... 64

Tablo 4.10. Nisan 2006 ve Mart 2007 tarihleri arasında Kadınhanı (Ilgın) ilçesinde tespit edilen, ortalama ısı, ortalama yağış ve ortalama nisbi nem değerleri..... 64

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 4.1. Konya yöresi sığırlarında serolojik ve mikroskobik muayene sonuçlarına göre *Babesia bigemina*'nın dağılımı..... 57

RESİM LİSTESİ

Resim 3.1. Çalışma Merkezlerinin Konya İli İçerisindeki Yerleşimi..... 49

Resim 4.1. Serolojik pozitif bir sığırda *Babesia bigemina*'ya karşı şekillenen antikorların IFAT ile görünümü (100X)..... 58

Resim 4.2. Babesiosisli bir sığırın kan frotisinde *Babesia bigemina*'nın piroplasm formları (100X)..... 58

1. GİRİŞ

Türkiye'de 2006 yılı istatistiklerine göre mevcut sığır sayısı 10.871.364 olarak belirlenmiştir. Mevcut sığırların 4.694.197'si (%43.18) melez, 3.405.349'u (%31.32) yerli, 2.771.818'i (%25.50) kültür ırklarından oluşmaktadır (Anonim 2006a). Konya, sığır varlığı (337.399 adet) ile Türkiye sığır varlığının % 3.10'unu oluşturmaktadır (Anonim 2006b). Konya ilindeki sığırlar ırk kompozisyonu açısından değerlendirildiğinde, özellikle melez ırklar çoğunluktadır (%51). Bunu sırası ile kültür ırkı (%28) ve yerli ırk (%21) takip etmektedir (Akmaz ve Günlü 2003).

Ülkemizde 1990-2004 yılları arasındaki dönemde, kültür ırkı hayvan varlığında artış ve yerli ırk hayvan sayısında azalış dikkat çekmektedir (Anonim 2006a). Kültür ırkı sığır sayısının yüksek olmasına karşın, elde edilen gelir, gelişmiş ülkelerle kıyaslandığında düşüktür. Türkiye'de sığır yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen çeşitli faktörler arasında paraziter hastalıklar önemli bir yer tutmakta ve bunlardan babesiosis, özellikle kültür ırkı sığırlarda büyük oranda verim kayıplarına neden olmaktadır.

Babesia türleri heteroksen gelişme gösteren protozoonlardır. Bir hayvandan diğerine bulaşmaları *İxodidae* ailesine bağlı kene türleri vasıtasıyla olmaktadır. *Babesia* türlerinin vektör kenelerle transovarial olarak uzun süre nesilden nesile aktarılması ve bu vektörlerle sistemli ve yeterli mücadele yapılamaması, hastalığın yayılmasına ve kontrol altına alınamamasına sebep olmaktadır. Hasta hayvanların sağaltımı için her yıl milyonlarca lira değerinde ilaç sarf edilmekte, buna hastalıktan ölen hayvanlar ve hasta hayvanlardaki verim kayıpları da eklenince, ülke ekonomisine verdiği zarar yükselmektedir. Bu sorunun ortadan kaldırılması için öncelikle hastalığın epidemiyolojik özelliklerinin araştırılması ve müteakiben hastalığın kontrolünde en uygun olan metotların devreye sokulması gerekmektedir. Kan protozoonlarından kaynaklanan enfeksiyonlara karşı korunmada, aşı uygulamalarının en güvenilir metot olduğu bilinmektedir. Ancak, bir ülkede herhangi bir aşının gerekli olup olmadığına karar vermek için öncelikle o hastalığın ülke çapında yayılışının tespit edilmesi ve hastalığın endemik yapısının belirlenmesi gerekmektedir. Endemik yapısı sabit olan ülkelerde hayvanlar doğal yollarla aşılanmış hayvan pozisyonunda olduğu için, aşı uygulanmasına gerek duyulmazken; endemik yapısı değişken olan ülkelerde, hastalığa karşı korunma amacıyla mutlaka aşı uygulamaları gerekmektedir. Endemik yapının belirlenmesi için farklı yaş gruplarına ait hayvanlarda hastalığın seroprevalansının tespit edilmesi

gerekmektedir. Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde sığır babesiosisinin seroprevalansı üzerine birçok araştırma yapılmış, ancak endemik durum hakkında herhangi bir veriye rastlanmamıştır.

Bu araştırmanın amacı, Konya yöresindeki sığırlarda *Babesia bigemina*'nın yayılışını serolojik ve mikroskobik metotlarla ortaya koymak, hastalığı nakleden keneleri ve onların mevsimsel aktivitelerini tespit etmektir. Bu durum hastalığın eradikasyon çalışmalarına yardımcı olacaktır.

Türkiye'de sığırlarda endemik olduğu bilinen babesiosisin endemik olarak sabit mi değişken mi olduğu belirlenecek, elde edilen bilgiler aşının gerekliliği konusuna ışık tutacaktır.

Bu araştırmada Konya Merkez, Çumra, Kadınhanı ve Beyşehir ilçelerinden 0-3, 3-6, 6-9, 9-12, 12-24, 24-36 aylık ve 36 aylıktan büyük olmak üzere 7 yaş grubuna ait toplam 770 sığır, mikroskobik ve serolojik yöntemlerle babesiosis yönünden muayene edilmiştir. Muayene edilen hayvanların her biri kene enfestasyonu yönünden de incelenmiş ve mevcut keneler toplanmıştır. Materyal alımı 12 ay boyunca her ay düzenli olarak yapılmış ve meteorolojik veriler kaydedilmiştir.

2. LİTERATÜR BİLGİ

Sığırlarda babesiosis; *Babesia bovis, Babesia bigemina, Babesia divergens* ve *Babesia major*'un neden olduğu protozoer bir hastalıktır (Minjauw ve McLeod 2003, Geleta 2005, Tonnesen 2005). Piroplasmosis, kene humması, kızılsu humması, Teksas humması veya dalak humması olarak adlandırılan babesiosis, Türkiye'de ağrıma, ağrık, sarılık gibi isimlerle bilinmektedir. Evcil ve yabani birçok hayvan türü ve insanlar *Babesia* türleri ile enfekte olabilmektedir. Türkiye'de babesiosis, ülke genelinde görülen en önemli sığır hastalıklarından biridir ve büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Çakmak 1990, Düzgün ve ark 1992, Eren 1992, İnci 1992). *Babesia* türleri heteroksen gelişme gösteren protozoonlar olup, gelişmelerinin bir kısmını koyun, keçi, sığır, at, köpek ve insan gibi omurgalı konaklarda, bir kısmını da *ixodidae* ailesinde yer alan bazı kene türlerinde (*Boophilus microplus, B. annulatus, B. decoloratus, Rhipicephalus appendiculatus, R. bursa, Hyalomma anatolicum excavatum* gibi) geçirirler (Soulsby 1986, Kreier ve Baker 1987, Sevinç 1996, Yukarı ve Karaer 1996, Dik ve Sevinç 2002, İnci ve ark 2002).

Hastalık özellikle tropikal ve subtropikal iklim bölgelerinde ve özellikle kenelerin aktif olduğu sıcak mevsimlerde ortaya çıkmaktadır (Soulsby 1986, Kreier ve Baker 1987, Sevinç 1996, Yukarı ve Karaer 1996, Dik ve Sevinç 2002).

Babesiosis aynı zamanda zoonoz bir hastalıktır. *B. microti* (WA-1, MO-1 olmak üzere iki suşu bulunur), *B. divergens* ve *B. bovis* olmak üzere kemirici hayvanlarda ve sığırlarda bulunan üç *Babesia* türünün insanlarda da enfeksiyona neden olduğu bilinmektedir. *B. microti*'nin WA-1 suşunun Washington, MO-1'in de Missouri suşu olduğu ve bu suşların Kuzey Amerika'da; *B. divergens* ve *B. bovis*'in ise Avrupa'da insanlarda bulunduğu bildirilmiştir (Sharan ve Krause 2000).

Babesia türleri genellikle konak spesifitesi gösterirler. Fakat bazı istisnalar da vardır. Örneğin; sığırlarda görülen *Babesia bovis*; koyun, keçi ve insanlarda da gözlenebilmektedir. Rodentlerde görülen *Babesia microti*, insanlar için de patojendir. Hilton ve ark. (1999) Kuzeydoğu Amerika'da yaptıkları bir araştırmada 671 katılımcıdan yedi (%1) tanesinde, *B. microti* antikorları tespit etmişlerdir. *Babesia divergens* sığırların yanı sıra insan, gerbil (*Meriones unguiculatus*) ve ratlarda da enfeksiyon oluşturabilmektedir. Koyun ve keçilerdeki türler de karşılıklı olarak her iki konağı

enfekte edebilmektedirler (Soulsby 1986, Sevinç 1996, Yukarı ve Karaer 1996, De Vos ve ark 2000, Dik ve Sevinç 2002).

Sığır babesiosisi, tüm dünyada yaygın olarak görülmekte ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Tropikal ve subtropikal ülkelerde, ekonomik önemi en büyük olan *Babesia* türleri *B. bovis* ve *B. bigemina*'dır (Wright 1990, Brown ve Palmer 1999, Regassa ve ark 2003, Geleta 2005, Tonnesen 2005). Kenelerle nakledilen hastalıkların özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde olmak üzere dünya sığır popülasyonunun %80'ini etkilediği bildirilmektedir (Ristic and Levy 1981, De Castro 1997, Minjauw ve McLeod 2003, Geleta 2005, Tonnesen 2005). Babesiosis bilhassa Afrika'da sığırların en önemli hastalıklarından biridir (Minjauw ve McLeod 2003, Tonnesen 2005).

Afrika'nın Kwazulu-Natal bölgesinde her yıl 8000 sığırın yalnızca bu hastalık sebebiyle öldüğü bildirilmiştir (Geleta 2005). Tropikal ve subtropikal bölgelerde, 300 milyon sığırın *B. bovis*, *B. bigemina* ve *Anaplasma marginale* enfeksiyonlarına karşı risk altında olduğu; Kuzey Afrika'da yalnızca babesiosisden kaynaklanan ekonomik kayıpların her yıl 70 ile 200 milyon Rand arasında olduğu bildirilmiştir (Bigalke 1980, Wright 1990, Regassa ve ark 2003).

Subtropikal iklim kuşağında yer alan Türkiye'de de babesiosis endemik bir hastalıktır. *Babesia* türlerini nakleden keneler, Türkiye'nin bütün coğrafik bölgelerinde bulunmakta ve kenelerin aktif oldukları mevsimlerde genellikle her yıl bu hastalıkla karşılaşılmaktadır (Özcan 1961, Göksu 1968, Dumanlı ve Özer 1987, Çakmak ve Öz 1993, İnci ve ark 2002, İça ve ark 2005, Sevinç ve ark 2005).

2.1. Tarihçe

İlk kez 1888 yılında Babes, sığırlarda "Enzootik hemoglobinuri" olarak tanımladığı hastalık etkeninin, eritrositler içerisinde bulunan küçük bir mikroorganizma olduğunu görmüş ve bakterilere benzettiği bu etkene *Hematococcus bovis* adını vermiştir. Fakat Babes, etkenlerin tabiatını tanıyamadığından, bu hastalığa "sığırların bakteriyel hemoglobinemisi" adını vermiştir (Mimioğlu ve ark 1969, Kuttler 1988, Ristic 1981, Sharan ve Krause 2000, Geleta 2005). Starcovici'nin 1893 yılında bu etkenleri *Babesia bovis* olarak isimlendirdiği ifade edilmiştir (Kuttler 1988). Smith ve Kilborne, 1893'de sığırlarda buldukları etkenin kenelerle nakledildiğini ispat etmişler, 1899'da Amerika'da sığırların eritrositlerinde yuvarlak, armut şeklinde gördükleri parazitlere *Piroplasma*

bigeminum adını vermişlerdir (Mimioğlu ve ark 1969). Daha sonra bu isim, *Babesia bigemina* olarak değiştirilmiştir (Kuttler 1988).

Kuttler (1988)'in bildirdiğine göre, Lignieres 1903 yılında *Babesia bigemina*'nın birbirinden farklı iki ayrı suşunun olduğunu ileri sürerek, bunlardan küçük olanına böbrek ve beyin kapillar damarlarından yapılan frotilerde rastlamış ve bu etkeni *Piroplasma argentina* olarak isimlendirmiştir. Bunu takip eden yıllarda *P. argentina, Babesia argentina* olarak tanımlanmıştır. 1970'li yılların ortalarında *B. argentina*'nın serolojik ve morfolojik özellikleri itibariyle *Babesia bovis* ile aynı olduğu ortaya konmuştur (Kuttler 1988).

Bazı araştırıcıların (Ristic 1981, Kuttler 1988) bildirdiklerine göre, M'fadyean ve Stockman 1911 tarihinde *Piroplasma divergens* olarak adlandırdıkları eritrosit içi organizmaları tespit etmişler, etkenlerin alyuvarların çevresinde bulunduğunu ve aralarındaki açının geniş olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca *B. bigemina*'ya benzeyen bir başka türü de tespit ederek, bunun *B. bigemina* olmadığını, muhtemelen *B. major* olabileceğini iddia etmişlerdir. Mimioğlu ve ark (1969), Sergent ve ark'nın 1926'da buldukları *Babesia* türünün *B. major* olduğunu ifade etmişlerdir. *Babesia* türlerinin evcil ve yabani birçok hayvan türünde bulunduğu gösterilmiştir (Purnell 1981, Levine 1985, Friedhoff 1988, Kuttler 1988, Sevinç 1996). Leeflang ve Perie (1972) yaptıkları serolojik testlerle sığırlarda bulunan *Babesia* türleri arasındaki antijenik ayrılıkları tespit etmişlerdir. Brocklesby (1976) sığırlarda sadece dört *Babesia* türünün bulunduğunu ve bunların *Babesia bigemina*, *B. major*, *B. bovis* ve *B. divergens* olduğunu belirtmiştir. Serolojik çalışmalarda ise *Babesia ovata*, *B. jakimovi* ve *B. occultans* gibi üç yeni *Babesia* türü daha bulunmuştur. Bu türlerin serolojik yoklamalarında da diğer türlerle çapraz reaksiyon vermedikleri tespit edilmiştir (Purnell 1981, Higuchi ve ark 1989).

Türkiye'de, *B. bigemina* ilk olarak 1890'da Nicole ve Adil tarafından İstanbul'da tespit edilmiştir. Daha sonra İbrahim Ekrem ile Lestoquard 1931'de, Gören ve Yetkin 1935'de Türkiye'de *Babesia* enfeksiyonlarının varlığını bildirmişlerdir (Mimioğlu ve ark 1969). Mimioğlu (1955) Karadeniz bölgesinde muayene ettiği 70 sığırın beşinde mikroskobik olarak *B. bigemina* tespit etmiştir. Aynı şekilde Özcan (1961) 194 sığır üzerinde yaptığı araştırmada, iki hayvanın (%1.03) *B. bigemina* ile, iki hayvanın da *B. bovis* ile enfekte olduğunu saptamıştır. Göksu (1970), Orta Anadolu, Karadeniz ve Marmara bölgelerinde yapmış olduğu araştırmalarında *B. bovis*'i teşhis ettiğini

belirtmiştir. Mimioğlu ve ark (1971), *B. major*'ün Marmara bölgesi sığırlarında yaygın olduğunu belirtmişler ve *B. divergens*'e Türkiye'de ilk kez Karadeniz bölgesinde rastlamışlardır. Tüzer (1981) ise Marmara bölgesinde yaptığı çalışmada; *B. bigemina*'yı %11.6, *B. bovis*'i %34.8 oranlarında saptamıştır.

Türkiye'de sığır kan protozoonlarının serolojik yöntemlerle teşhisi ilk defa Çakmak (1987) tarafından yapılmıştır. Bu araştırıcı (Çakmak 1987) Ankara'nın Beytepe köyünde 185 sığıra ait 494 serumu *B. bigemina*, *B. bovis* ve *B. divergens*'e spesifik antikorların varlığı yönünden IFA testini uygulayarak test etmiş ve hayvanların seropozitiflik oranlarını sırasıyla %4.7, %9.7 ve %0.0 olarak tespit etmiştir. Sayın ve arkadaşları (1989) Ankara yöresinde yaptıkları sero-epidemiyolojik araştırmada IFA testi ile *B. bigemina*'nın insidensini %70.96, *B. bovis*'inkini ise %32.25 olarak saptamışlar, ancak incelenen hayvanların tamamının *B. divergens* enfeksiyonu yönünden seronegatif olduğunu bildirmişlerdir. Dinçer ve arkadaşları (1991) Karadeniz bölgesi sığırlarında, IFA testi ile *B. bigemina*'nın insidensini %61, *B. bovis*'in %46, *B. divergens*'in ise %75 oranında olduğunu saptamışlardır. Düzgün ve arkadaşları (1991) 1986-1989 yılları arasında, Türkiye'nin altı farklı coğrafik bölgesinden topladıkları 1428 adet sığır serumunu *B. bovis*'e spesifik antikorlar yönünden ELISA testi ile araştırmışlar ve bu türün prevalansını %51.2 olarak saptamışlardır.

Babesiosisi enfekte hayvanlardan duyarlı hayvanlara nakleden vektörlerin keneler olduğu ilk olarak 1893 yılında Smith ve Kilbourne tarafından bildirilmiş ve bu araştırıcıların *B. bigemina*'nın *Boophilus annulatus* tarafından nakledildiğini bildirdikleri ifade edilmiştir (Ristic and Levy 1981, Geleta 2005).

Mc Cosker (1979), bazı kene cinslerinin naklettiği protozoonları dört grupta toplamıştır. Buna göre *Boophilus* cinsi kenelerin, *Babesia* ve *Anaplasma* türlerini; *Hyalomma* cinsindeki kenelerin, *Theileria annulata*'yı; *Amblyomma* cinsindeki kenelerin, *Cowdria ruminantium* ve *Theileria mutans*'ı; *Rhipicephalus* cinsi kenelerin ise *Theileria parva*'yı naklettiklerini belirtmiştir.

Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinde Ixodidae ailesindeki kenelerin dağılımı üzerine yapılan araştırmalarda (Kurtpınar 1954, Merdivenci 1969, Mimioğlu ve ark 1969, Sayın ve Dumanlı 1982, Sayın ve Karaer 1987) *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*, *Boophilus*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus* ve *Amblyomma* cinslerine bağlı birçok kene türü teşhis edilmiştir. Kurtpınar (1954) *B. bigemina* ile *B. bovis*'in vektörlüğünü yapan kene

türlerinden *B. annulatus*'un, *B. bovis* ve *B. divergens*'in vektörlüğünü yapan kene türlerinden de *I. ricinus*'un Türkiye'de yaygın olarak bulunduğunu bildirmiştir. Mimioğlu (1954) da İxodid kenelerden *B. annulatus* ve *I. ricinus*'un Karadeniz bölgesinde, diğer bölgelere oranla daha yaygın olduğunu belirterek, bu bölgede *B. divergens*'in bulunma ihtimalinin yüksek olduğunu vurgulamıştır. Özkoç (1973) Marmara bölgesinde yaptığı araştırmada *B. annulatus (B. calcaratus)* türü kenelerde *B. bigemina*'nın gelişme formlarını teşhis etmiştir. Eren (1992), Celep (1982-1983)'e atfen, Karadeniz bölgesinde *B. bovis* ile enfekte sığırların üzerinden toplanan kenelerden *B. annulatus*'un yumurtalarında *Babesia* merozoitlerinin saptandığını bildirmiştir. Sayın ve Karaer (1987) Ankara yöresinde *B. annulatus*'un ilkbahar, yaz ve sonbahar mevsimlerinde %1 oranında, *Haemaphysalis punctata*'nın ilkbahar ve kış mevsimlerinde %2 oranında, *I. ricinus*'un ise ilkbahar, sonbahar ve kış mevsimlerinde %3 oranında bulunduğunu tespit etmişlerdir.

2.2. *Babesia bigemina*'nın Sistematikteki Yeri

Babesia türlerinin sistematikteki yeri, yazarlara göre farklılık göstermekle birlikte günümüzde kullanılan ve geçerliliğini koruyan sistematiğe göre (Levine 1985, Kreier ve Baker 1987) *B. bigemina*'nın yeri şöyledir;

Alem: Animale

Alt alem: Protozoa

Anaç: Apicomplexa

Sınıf: Sporozoea

Alt sınıf: Piroplasmia

Dizi: Piroplasmida

Aile: Babesiidae

Cins: *Babesia*

Tür: *Babesia bigemina*

Babesia cinsi için günümüze kadar birçok isim (*Haematococcus*, *Pyrosoma*, *Piroplasma*, *Achromaticus*, *Nicollia*, *Nuttallia*, *Smithia*, *Rossiella*, *Rangelia*, *Microbabesia*, *Babesiella*, *Francaiella*, *Luhsia*, *Sogdianmella* ve *Pattonella*) kullanılmıştır (Mahoney 1977, Sevinç 1996).

Literatür verilerine göre (Minjauw ve Mc Leod 2003, Uilenberg 2006) sığırlarda Babesiosise neden olan 8 *Babesia* türünün varlığından bahsedilse de, dünya genelinde görülen en yaygın türler; *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens* ve *B. major*'dur. *Babesia* türlerinde antijenik varyasyon da görülmektedir. Antijenik yapı türler arasında farklı olduğu gibi, aynı türün değişik suşları arasında da farklılık göstermektedir.

2.3. *Babesia* Türlerinin Genel Morfolojileri

Sığırlarda görülen *Babesia* türleri, büyüklüklerine göre büyük ve küçük *Babesia* türleri olmak üzere iki grupta incelenebilir. Küçük *Babesia* türleri; yuvarlak, tek armut ve çift armut şeklinde olup, 2.5 mikrondan küçüktürler. Büyük *Babesia* türleri ise; yuvarlak, oval veya armut şeklindedirler ve büyüklükleri 2.5 mikron ile 4.5 mikron arasındadır. *Babesia* türlerinin piroplasm formları, gelişme dönemine göre önce halka, sonra ameboid ve daha sonra armut biçimini almaktadırlar. Çift armut formları birbirinden ayrılıp, hücreyi terk ederek diğer alyuvarlara girmekte ve tekrar yuvarlak veya halka şeklini almaktadırlar (Mahoney 1977, Purnell 1981, Friedhoff ve Smith 1981, Levine 1985, Kreier ve Baker 1987, Kuttler 1988, Geleta 2005, Tonnesen 2005). Büyük *Babesia* türlerinin bulunduğu grupta; *Babesia bigemina, B. major, B. jakimovi, B. ovata* ve *B. occultans* bulunmaktadır. Küçük *Babesia* türlerinin bulunduğu grupta ise *B. bovis* ve *B. divergens* yer almaktadır. Işık mikroskobunda, parazitin morfolojik ayrıntıları gösterilememekle birlikte, küçük ve büyük *Babesia*'lar olarak bilinen iki grup kolaylıkla ayırt edilebilmektedir.

Babesia bigemina: 4-5 µm uzunluğunda, 2µm genişliğindedir. Eritrositler içerisinde karakteristik olarak tek veya çift armut formunda bulunur. Çift armut formlarının aralarındaki açı dardır. Eritrositler içerisinde oval, yuvarlak veya ameboid formları da görülebilir. *B. bigemina*'nın en yaygın görüldüğü bölgeler, Amerika, Avrupa, Afrika ve Avustralya'dır. Teksas humması, kızılsu humması veya kene humması adı verilen hastalığa neden olur. Vektörleri; tek konaklı kenelerden *Boophilus annulatus, B. microplus, B. decoloratus*; iki konaklı kenelerden *Riphicephalus bursa, R. evertsi*; üç konaklı kenelerden *Haemaphysalis punctata, R. appendiculatus*' dur (Hiepe ve Jungman 1983, Levine 1985, Soulsby 1987).

Babesia bovis (*B. argentina*, *B. berbera*): Sığırların küçük *Babesia* türlerinden biridir. Uzunluğu 2 µm, genişliği 1.5 µm'dir. *B. divergens*'den biraz büyüktür. Eritrositler içerisinde yuvarlak veya intizamsız şekillerde dar, ince, yonca yaprağı biçiminde bulunur.

Babesia bovis'in vektörleri *B. annulatus, B. microplus, R. bursa*, *I. ricinus* ve *I. persulcatus*'tur (Levine 1985, Friedhoff 1988).

Babesia divergens: Morfolojik yapısı *B. bovis*'e benzer, fakat ondan daha küçüktür. Uzunluğu 1.5-2 µm, genişliği 0.4 µm'dir. Genellikle eritrositlerin periferine yerleşir. Bazen eritrosit çeperine teğet olarak da bulunabilir. Çift armut formları geniş açılıdır. Vektörlük yapan kene türü *I. ricinus*'dur (Friedhoff 1988).

Babesia major (*Babesiella major*): Şekil ve büyüklük bakımından *B. bovis*'e benzer. 2.6 µm uzunluğunda, 2.5 µm genişliğindedir. Genellikle yuvarlak, tek veya çift armut formlarında bulunur. Çift armut formlarının açısı 90º den daha dardır. Vektörlük yapan kene türü *Hae. punctata*'dır (Levine 1985, Kuttler 1988).

Babesia jakimovi: 4.5 µm uzunluğunda, 2.5 µm genişliğinde olup, büyük *Babesia* türleri arasında yer alır. Eritrositler içerisinde yuvarlak, tek veya çift armut şeklinde görünür. Vektörlük yapan kene türü *I. ricinus*'dur. Sibirya ve Rusya'da tespit edilmiştir (Purnell 1981).

Babesia occultans: 3.0 µm uzunluğunda, 2.0 µm genişliğinde, büyük bir *Babesia* türüdür. Vektörlük yapan kene türü *H. anatolicum anatolicum* ve *H. marginatum rufipes*'dir. Güney Afrika'da tespit edilmiştir (Gray ve De Vos 1981).

Babesia ovata: 3.2 µm uzunluğunda, 1.7 µm genişliğinde olup, büyük *Babesia* türleri içinde yer alır. Vektörlük yapan kene türü *Hae. longicornis*'dir. Japonya'da tespit edilmiştir (Higuchi ve ark 1989).

Babesia beliceri: 2.88 µm uzunluğunda, 1.68 µm genişliğinde, büyük bir *Babesia* türüdür. Vektörlük yapan kene türü *H. anatolicum anatolicum* ve *H. marginatum rufipes*'dir. Rusya'da tespit edilmiştir (Gray ve De Vos 1981, Figueroa ve ark 2006).

Babesia türleri, eritrositler içinde genellikle yuvarlak, ameboid, armut, basil veya batone şeklinde görünürler. Bunlara "piroplasm form" adı verilir. Piroplasm formlar çekirdek, sitoplazma ve vakuolden oluşmuşlardır. Elektron mikroskobik incelemelerde *Babesia*'ların piroplasm formlarının üç kattan oluşan bir zarla çevrildiği tespit edilmiştir. En dışta ince bir dış membran, ortada mikrotubullerin bulunduğu orta membran ve en içte de üç tabakadan oluşan ve üzeri deliklerle kaplı olan iç membran yer almaktadır. Mikrotubullerin bulunduğu orta kat, parazitin küt ucunda sonlanmaktadır. Parazitin

sitoplazmasında rhoptri ve mikronem olmak üzere iki tip organel bulunur. Rhoptri olarak adlandırılan organeller büyük, mikronem olarak adlandırılan organeller ise daha küçük yapıdadırlar. Eritrosit içine giren parazitin hemen iç membranı, mikrotubülleri ve kutup cisimcikleri kaybolur ve ince bir dış membran ile çevrilmiş olarak kalır. Parazitin eritrosit sitoplazmasına girişi pinositozis yolu ile olmaktadır.

Parazit, eritrosit içerisinde hemoglobin ile beslenir. Detaylı bir şekilde muayene edilen parazitin sitoplazmasında, vakuollerin içerisinde hemoglobin görülebilmektedir. Hemoglobin, parazit tarafından tamamen sindirilememektedir.

Memeli hücrelerinde ve bazı protozoonların yapısında bulunan mitokondri, *Babesia*'larda bulunmamaktadır. Ancak, *Babesia*'ların sitoplazmalarında bulunan çift membranlı yapıların mitokondri görevi yaptıkları ileri sürülmektedir. Parazitin çekirdeğinde çekirdekçik bulunmamaktadır (Mahoney 1977, Levine 1985, Kreier ve Baker 1987, Friedhoff 1988).

2.4. *Babesia* Türlerinin Genel Biyolojileri

Babesia türleri, biyolojilerinin büyük kısmını özellikle de gametogoni safhasını kenelerde tamamladıklarından dolayı, keneler parazit için esas konak durumundadırlar. *Babesia* türlerinin gelişmeleri sırasında eşeyli ve eşeysiz üreme safhaları birbirini takip eder. Eşeysiz üreme omurgalı konaklarda, eşeyli üreme ise vektör kenelerde meydana gelir. Etkenin omurgalı konaklardaki yerleşim yerleri eritrositlerdir. Mimioğlu ve ark (1969)'na göre, *Babesia* türlerinin keneler tarafından taşındığı ilk olarak Smith ve Kilborne tarafından 1893'de bildirilmiş ancak, kenelerin önemi Riek'e kadar tam olarak açıklanamamıştır. Riek, *Piroplasma bigemina*'nın *Boophilus microplus* vücudundaki gelişme safhalarını araştırmış, etkenlerin kenenin bağırsak epitel hücrelerinde ve tükrük bezlerinde çoğa bölünme tarzında ürediği ileri sürülmüştür. Mahoney (1977), Riek'e atfen *B. bovis* ve *B. bigemina*'nın *Boophilus microplus* türü dişi keneler ile transovarial olarak nakledilmesi sırasında şekillenen olaylar zincirini açıklamaktadır. Benzer bulgular *Babesia ovis*'in *Rhipicephalus bursa* ile nakledilmesi sırasında da kaydedilmiştir. Friedhoff (1988), merozoit içeren eritrositlerin, kenenin bağırsak epitel hücrelerinde fagosite edildiğini ve kene vücudundaki gelişmenin basit bir şekil değişikliği ile başladığını ifade etmektedir. Etken, *Babesia* türleri ile enfekte olan bir dişi kenenin müteakip nesillerinde de (yumurta, larva, nimf ve olgun), gelişmesine devam etmektedir. Ergin keneler enfekte bir konaktan kan emerken paraziti alırlar, fakat kendileri başka bir

konağa nakledemezler. Çünkü erişkin erkek ve dişi keneler kan emip doyduktan sonra çiftleşirler. Çiftleşmenin ardından erkek keneler ölür. Dişi keneler ise toprağa düşerek yumurtlama aşamasına geçerler ve yumurtladıktan sonra onlar da ölürler. Ergin kene vücudunda bulunan parazitin başka bir konağa nakli, ancak dişi keneden oluşan müteakip nesiller vasıtasıyla olmaktadır. Enfekte dişi kenelerin yumurtaları da parazit içerir. Parazitler enfekte yumurtadan larvaya, larvadan nimfe, nimfden ergin keneye ve tekrar dişi keneden yumurtaya geçmek suretiyle (transovarial nakil) gelişmelerine devam ederler. Keneler, gelişmeleri sırasında, herhangi bir evrede, konaklarından kan emerken, tükrük salgıları ile *Babesia*'nın sporozoitlerini konağa naklederler (Mahoney 1977, Purnell 1981, Friedhoff ve Smith 1981, Hiepe ve Jungman 1983, Levine 1985, Friedhoff 1988).

Birkaç tür için farklılık arzetmekle birlikte, *Babesia* türlerinin biyolojileri genel olarak aynıdır. Enfekte kenelerin kan emme esnasında konak hayvana inokule ettikleri sporozoitler, hemen eritrositlerin içine girerek ikiye veya çoğa bölünmeye başlarlar. Bölünmeden sonra oluşan merozoitler eritrositleri parçalayarak kan plazmasına dökülürler ve yeni eritrositlere girerler. Gelişme bu şekilde devam edip gider. Vektör kenelerin enfekte konaktan kan emmeleri sırasında aldıkları eritrositler, kenenin bağırsaklarında lize olur ve etkenler birkaç gün bağırsak boşluğunda serbest olarak bulunur. Parazitler kenelerin vücudunda eritrositik formdan (piroplasm form) kenenin tükrük bezlerindeki son gelişme formuna (sporozoit) kadar morfolojik, metabolik ve antijenik olarak birçok değişikliklere maruz kalırlar. Bu sebeple biyolojinin her döneminde antijenik ve metabolik yapı farklı olmaktadır. Piroplasm formlar enfekte konaktan kan emen kenenin bağırsağında bir kaç saat eritrositlerin içerisinde kalırlar. Ancak, bu süre zarfında etkenlerin çoğu ölür, dayanıklı kalan oval formlar, bağırsak boşluğunda yıldız görünümüne sahip olan gametlere dönüşürler (Soulsby 1987, Friedhoff 1988).

Parazitin kene vücudundaki ilk gelişme safhası gamogoni dönemidir. Bu dönemde kenenin bağırsak epitel hücrelerinde ikiye bölünerek çoğalan merozoitler birkaç saat içinde ışınsal uzantılara sahip olan erkek ve dişi gametositlere dönüşürler. Bu gametositler de bir takım değişikliklerden sonra, döllenme yeteneğine sahip olan erkek ve dişi gametlere dönüşürler. Her bir gametositten iki ile dört gamet oluşmaktadır. Gamogoni döneminin son safhasında, erkek gametin dişi gameti döllemesi ile küresel bir yapıya sahip olan zigot oluşmaktadır. Zigot, kenenin bağırsağında bilhassa bazofilik

epitel hücrelerine girerek çoğa bölünmeye başlar. Bu sırada hacim olarak da büyür ve çekirdek materyali sitoplazma boyunca küçük noktacıklar şeklinde dağılır. Daha sonra her çekirdek parçasının etrafı bir zarla çevrilir ve sonra da kendiliğinden hareket edebilen çubuk şekilli sporokinetler (vermikül, kinet) oluşur. Bu sporokinetler 11-15 µm uzunluğundadır. Sporokinetlerin geniş ve küt olan ucunda bir kep bulunmaktadır. Sporokinetler kenenin tüm vücuduna yayılır ve şizogonik yolla çoğalmaya başlarlar. Bir süre sonra bunlar mekik şeklini alarak (kan emildikten 72 saat sonra) bir kısmı kenenin hemolenf hücrelerine, bir kısmı kas hücrelerine ve diğerleri de boşaltım organlarının epitel hücrelerine girerler ve buralarda ikiye bölünmek suretiyle çoğalmalarına devam ederler. Bulundukları hücreleri parçalayan sporokinetlerin bir kısmı sağlam hücrelere girerek yeniden çoğalmaya devam ederken, bir kısmı da tükrük bezi asini hücrelerine giderek burada yuvarlaklaşırlar ve daha sonra sporogoni yoluyla çoğalarak içlerinde önce sporoblastlar sonra da sporozoitler oluşur. Dişi kenelerde, bu hücrelere ilave olarak, ovaryumlara da giden sporokinetler, kenenin yumurtlama periyodu süresince üremeye devam ederler. Bu durum enfekte yumurtaların sayısını artırmaktadır. Transovarial nakil sonucu, yumurtalardan çıkan larvalar da enfektif özellik taşımaktadırlar. Sporokinetler larvanın bağırsak epitel hücrelerinde de gelişmelerini sürdürürler ve bu şekilde yumurtadan çıkan enfektif larvalar toprağa inerler ve çevreye yayılarak kan emmek için uygun bir konak ararlar (Hiepe ve Jungman 1983, Levine 1985, Soulsby 1987, Friedhoff 1988).

2.5. Babesiosisin Endemik Durumu

Babesiosisin kontrolü için günümüzde yapılan uygulamalar, hasta hayvanların tedavisi ve vektör kenelerle mücadele metotlarından ibarettir. Halbuki etkenin vektör kenelerde ve sığırlarda güvenilir bir biçimde teşhis edilmesi ve gerekiyorsa aşı uygulamalarının yapılması, hastalığın kontrolü için büyük önem arz eden konulardandır. Hastalığın teşhisi genellikle klinik semptomlara ve Giemsa ile boyanmış kan frotilerinin mikroskobik muayenelerine göre yapılmaktadır. Hastalığı atlatan ve taşıyıcı pozisyonda bulunan hayvanlar, keneler için enfeksiyon kaynağı olmaya devam ederler. Taşıyıcı hayvanların tüm sığır popülasyonu içindeki oranı, hastalığın endemik durumu için belirleyici bir faktördür. Bu sebeple taşıyıcı hayvanların belirlenmesi, hastalığın epidemiyolojisinde en önemli kriterlerden birisidir.

Bir ülkede herhangi bir aşının gerekli olup olmadığına karar vermek için, öncelikle o hastalığın ülke çapında yayılışının tespit edilmesi ve hastalığın endemik durumunun belirlenmesi gerekmektedir. Hastalığın endemik açıdan sabit olup olmadığının tespiti, farklı yaş gruplarına ait sığırların enfeksiyon oranlarının belirlenmesi ile mümkündür. Endemik yapısı sabit olan ülkelerde hayvanlar doğal yollarla aşılanmış hayvan pozisyonunda olduğu için genellikle akut enfeksiyonlara rastlanmaz, bu sebeple de aşı uygulanmasına gerek duyulmaz. Endemik yapısı değişken olan ülkelerde ise daima salgın çıkma riski söz konusudur ve bu nedenle hastalığa karşı koruyucu aşı uygulamaları tavsiye edilmektedir. Endemik sabit bölgelerde doğan buzağılar maternal antikorlar sayesinde 6-9 aylık olana kadar enfeksiyona karşı dirençli olabilmekte ve bu arada enfekte keneye de maruz kalarak koruyucu antikor titreleri yükselmektedir. Bu nedenle de aşılamaya gerek duyulmamaktadır. Ancak, endemik değişken bölgelerde daima enfeksiyon riski olabilmekte ve bu nedenle 6-9 aydan sonra aşı ile koruma tercih edilmektedir (Young 1988, Smith ve ark 2000, Regassa ve ark 2003, Geleta 2005).

Endemik durum, son yıllarda sık sık gündemde olan ve sürü immünitesini tanımlayan epidemiyolojik bir kavramdır. Sürü immünitesinin düzeyi genellikle serolojik testlerle ölçülür ve "inokulasyon oranı" olarak tanımlanan terimle ifade edilir. İnokulasyon oranı direkt olarak kenelerdeki enfeksiyonun yoğunluğu ve hayvanlardaki enfeksiyon oranı ile ilgilidir. *Babesia* türlerinin inokulasyon oranları, doğal ve kolostral immuniteyle korunan sığırları enfekte edebilecek miktarda olduğu zaman, klinik hastalık sınırlı düzeyde olmakta ve endemik sabitlik elde edilmektedir. Bunun aksine, eğer inokulasyon oranı yeterli değilse ve genç sığırların doğal ve kolostral bağışıklıkları tam şekillenmemişse endemik değişkenlik şekillenmekte ve bu durum klinik vakalarla sonuçlanmaktadır (Geleta 2005).

İnokulasyon oranının formülü, Mahoney ve Ross (1972) tarafından geliştirilen yönteme göre; $h = (-1)[\ln (1-I)] / t$'dir.

h = inokulasyon oranı,

I = enfekte hayvan oranı (%),

t = hayvanların yaşlarının aritmetik ortalaması (gün olarak).

Bu işlemin sonucunda; h değerinin 0.005'den büyük olması bölgenin endemik yapısının sabit olduğunu, 0.0005 ile 0.005 arasında olması ise değişken olduğunu

göstermektedir. İnokulasyon oranları, hayvanların örnek alınan günlerdeki bilinen yaşları dikkate alınarak yapılan serolojik çalışmalarla hesaplanmaktadır.

İnokulasyon oranının hesaplanmasıyla, bir sürüde babesiosisin görülme ihtimali belirlenebilir. Mahoney ve Ross (1972), inokulasyon oranı 0.005 ile 0.05 arasında olan bir sığır populasyonunun endemik açıdan sabit olduğunu ifade ederken, bu oranın 0.0005'den düşük olması durumunda da salgın çıkma riskinin veya hastalık oluşma ihtimalinin çok az olduğunu bildirmişlerdir.

Endemik sabitliğin olabilmesi için gerekli minimum inokulasyon oranı 0.005'dir. Başka bir ifadeyle, dokuz aylığa kadar olan hayvanların en az %75'inin seropozitif olması, o sürünün endemik sabit olduğunu göstermektedir. Böyle bir sürünün enfekte kenelerle enfeste olması durumunda genellikle akut hastalık tabloları gözlenmez, aksine vücuttaki anti-babesia antikorlarının titresi daha da yükselir ve müteakip kene aktivite sezonlarında da güçlü immüniteye sahip olmaları dolayısıyla reenfeksiyonlara direnç gösterirler. Ancak yaşamlarının ilk dokuz aylık döneminde hayvanlar kene enfestasyonuna maruz kalmaz ise koruyucu immünite giderek azalmaktadır. Maternal antikorların ve yaş direncinin azalması dolayısıyla enfeksiyona karşı daha duyarlı olan dokuz aylıktan büyük sığırlarda, inokulasyon oranı 0.005'den düşük ise primer enfeksiyonun şekillenme ihtimali yükselir. Bu ihtimal 0.001'lik inokulasyon oranında en yüksek seviyededir (Smith ve ark 2000).

Mahoney ve Ross'un (1972) geliştirdiği model, kenelerle bulaşan diğer hastalıklar için de kullanılmaktadır (Anon 1984).

Endemik sabitliğin şekillenmesi, ortamdaki kene varlığına bağlıdır. İklim veya bilinçsiz akarisid uygulamaları dolayısıyla kene populasyonunun azalması durumunda endemik sabitlik, değişkenliğe dönüşebilir. Bu nedenle sürü bazında stratejik kene kontrol metotları uygulanarak, endemik sabitlik durumunun gelişmesi teşvik edilebilir.

Güney Afrika'da, bazı çiftliklerde uygulanan kene kontrol metotlarının, *B. bigemina* ve *B. bovis*'in endemik sabitliği üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar, stratejik kene kontrol metotları uygulanarak endemik sabitliğin oluşturulabileceğini göstermektedir (De Vos ve Every 1981, Ardington 1982)

Hastalığın yayılma bölgeleri endemik, marjinal ve enfekte olmayan bölgeler olarak üç grupta sınıflandırılabilir. Endemik bir bölgeden endemik olmayan bir bölgeye hayvan nakilleri ile hastalık yayılabilmektedir (Young 1988).

Carrique ve ark (2000), yaptıkları bir çalışmada, yaşları dokuz aya kadar olan sığırların bulunduğu sürülerde inokulasyon oranını 0.0005 ile 0.005 arasında tespit ederek, bu sürülerin, ilk dokuz aylık dönemde etkene maruz kalmamaları dolayısıyla, endemik açıdan değişken olduğunu belirtmişler ve buna göre etkene ilk defa maruz kalabilecek olan yaşlı sığırlarda enfeksiyonun öldürücü olabileceği üzerine vurgu yapmışlardır.

Norval ve ark (1983), seropozitif hayvanların oranını baz alarak, hastalığın endemik yapısını belirleyecek beş farklı epidemiyolojik durum geliştirmişlerdir. Bunlar:

- Endemik sabit durumlar (%81-100 pozitif serum)
- Yaklaşık endemik sabitlik (%61-80 pozitif serum)
- Endemik değişken durumlar (%21-60 pozitif serum)
- Minimum hastalık durumu (%1-20 pozitif serum)
- Hastalıksız alanlar (%0 pozitif serum)

Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada, yaşları 7, 8, 10, 17, 20 ay ile 30-120 ay arasında değişen sığırların serumları IFA testi ile *B. bigemina* antikorları yönünden incelenmiş ve hayvanların sırasıyla %46, %70, %90, %92, %54 ve %82 oranlarında seropozitif oldukları tespit edilmiştir. Endemik sabitliğin, hayvanlar dokuz aylık olduğunda şekillendiği bildirilmiştir (Regassa ve ark 2003).

Türkiye'de, babesiosis endemik bir hastalıktır. Her yıl kenelerin aktif olduğu dönemlerde bu hastalıkla karşılaşılmaktadır. Akut enfeksiyonlar veteriner hekimler veya hayvan sahipleri tarafından, klinik veya mikroskobik metotlarla teşhis edilip anti-babesial ilaçlarla tedavi edilmektedir. Türkiye'de sığır babesiosisinin serolojik metotlarla teşhisi ve hastalığın yaygınlığı yönünde yapılan serolojik çalışmalar sığırlarda *Babesia* seropozitifliğinin değişik oranlarda görüldüğünü ortaya koymaktadır (Sayın ve ark 1989, Dinçer ve ark 1991, Eren 1992, Çakmak ve Öz 1993, Sayın ve ark 1996, Sevinç ve ark 2001, Aktaş ve ark 2001, İnci ve ark 2002, Karatepe ve ark 2003, İça ve ark 2005).

Ancak, farklı yaş gruplarına ait sığırlarda endemik durumun sabit mi, yoksa değişken mi olduğu ve aşı uygulamalarının gerekli olup olmadığı konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır.

2.6. Babesiosisde Bağışıklık

Bağışıklık sisteminin antijenlere karşı gösterdiği reaksiyon, doğal ve kazanılmış bağışıklığın aktif hücreleri tarafından gerçekleşir. Doğal bağışıklık elemanları, mikroorganizmalara karşı ilk savunma basamağını oluştururlar. Kazanılmış bağışıklık sistemi ise, yabancı bir ajanla karşılaşıldığında uyarılan ve sadece o antijene özgü olarak gelişen, o antijenle bir kez daha karşılaşıldığında daha güçlü bir şekilde cevap verilmesini sağlayan bir sistem olup, humoral ve hücresel savunma şeklinde ortaya çıkar. Babesiosise karşı dirençte genetik yapı, yaş direnci, primer enfeksiyona veya re-enfeksiyona karşı şekillenen savunma biçimi ve hayvanın ırkı gibi birçok faktör etkilidir.

Babesiosisin immun mekanizmasında hem humoral hem de hücresel faktörler rol oynamaktadır. Enfeksiyonun ilk aşamasında, kenelerin tükrük bezlerinden geçen sporozoitler kısa bir süre kan dolaşımında serbest olarak bulunurlar. Bu safhada, IgG'ler sporozoitlere bağlanarak bunların eritrositleri istila etmelerini engellerler. *Babesia* türlerinin eritrositlere geçmesiyle birlikte parazitemi seviyesi yükselir ve akut hastalık formu gelişir. Doğal bağışıklık hücreleri bunu kontrol altına almaya çalışır (İnci ve ark 2007).

Hayvanlarda *Babesia* türleri ile doğal enfeksiyondan sonra, kuvvetli bir bağışıklık meydana gelmektedir. Eğer enfeksiyon tekrarlarsa, bağışıklık sürekli olmaktadır. Hasta hayvanlar henüz antikor oluşmadan etkili bir şekilde tedavi edilirse, bağışıklık oluşmamaktadır. Hastalığı atlatan hayvanlarda enfeksiyondan sonraki altı ay için, güçlü bir bağışıklık devam etmektedir. Ancak bağışıklığın koruyucu etkisi bir yıl kadar bir süre sonra azalmakta ve enfeksiyona karşı tekrar duyarlılık oluşmaktadır. Endemik bölgelerde hayvanlar ilk enfeksiyonu atlattıktan sonra genellikle sonraki enfeksiyonlara karşı dirençli olmaktadırlar (Wright ve ark 1987, Blood ve Radostits 1989).

Babesiosisde akut enfeksiyondan sonra hayvanlardaki iyileşme, immun cevap ile ilişkilidir. İmmun cevap, aynı tür etken ile tekrarlanan enfeksiyonlarda hastalığın oluşumunu önlemektedir. Oluşan bağışıklık, parazitin vücuda girişini önleyememekte, ancak üremesini sınırlandırmaktadır. Mahoney (1977), Callow ve ark'na atfen, ilaç

tedavisi ile *B. bovis* enfeksiyonunun ortadan kaldırılmasından sonra bağışıklığın altı ay devam ettiğini bildirmektedir. Bir tek enfeksiyondan sonra bağışıklığın devam etmesi durumu epizootiyolojik öneme sahiptir ve hastalığın kontrolünde önemlidir. Alabay ve ark (1987), *B. ovis* veya *B. bovis*'e karşı immun cevabı ölçmek için, bu etkenlerin ham ekstraktlarını deney hayvanlarına inokule etmişler ve üç hafta sonra yapılan deneysel enfeksiyonda, deney hayvanlarının enfeksiyona direnç gösterdiklerini bulmuşlardır. Bu çalışma enfekte hayvanların plazmalarının, müteakip bir enfeksiyona karşı koruma sağladığını göstermektedir. Callow ve ark (1974), sığırlarda *B. bigemina*'ya karşı bir bağışıklığın oluştuğunu IFAT ile tespit etmişlerdir.

Enfeksiyon sırasında fagositozun artması, enfekte hücrelerin makrofajlar tarafından sindirilmesi ve enfekte eritrositlerin membran geçirgenliğindeki değişikliklere bağlı olarak antikorların eritrosit içine girmeleri sonucu etkenler yok edilebilmektedir. Fagosit hücrelerin sayısının, canlı organizmaları sindirmek için yeterli miktarda olması, korunmada önemlidir. Opsoninlerin mevcudiyeti ve makrofajların uyarılması ile korunma artmaktadır. İlk enfeksiyonda konağın canlılığını devam ettirebilmesinde en büyük öneme sahip olan organ dalaktır (Mahoney 1977, Mahoney 1983).

Babesia enfeksiyonlarına karşı konak savunmasında rol oynayan bağışıklık sistemi mekanizmalarını Doğal bağışıklık, Kazanılmış bağışıklık, Yaş direnci ve Preimmünite olmak üzere 4 alt başlık altında incelemek mümkündür.

2.6.1. Doğal bağışıklık

Canlıları mikroorganizmalara karşı koruyan ve çoğu bu organizmalarla karşılaşmadan önce de vücutta bulunan koruyucu mekanizmalar doğal bağışıklığı oluşturur. *Babesia* enfeksiyonlarına karşı oluşan doğal bağışıklıkta rol alan başlıca elemanlar, doğal katil hücreler (NK) ve makrofajlardır. Bu hücrelerin yanı sıra, nötrofiller, T lenfositleri, trombositler, eozinofiller, mast hücreleri ve non-haemopoietik hücreler de doğal bağışıklığın gelişmesinde görev alırlar. Babesiosise karşı doğal bağışıklıkta rol oynayan hücrelerin yanı sıra, aktif makrofajlardan salgılanan gama interferon (IFN-γ), alfa-tümör nekroz faktör (TNF-α), interlökin-12 (IL-12) ve reaktif oksijen türleri (ROSs) gibi çözülebilir faktörler de doğal bağışıklığın elemanları olarak iş görürler (Callow and Dalgliesh 1982).

IL-12 ve IL-10, önemli immunregülatör sitokinlerdir. Genç hayvanlara virulent *B. bovis* suşu verildiğinde hemen koruyucu bağışıklık devreye girmekte ve dalakta, IL-12 ve IFN-γ'lerin sayısı artmaktadır. Buna karşın ölümden önce, yaşlı hayvanlarda belirgin bir antikor cevabı şekillenmemekte ancak, hem yaşlı hem de genç hayvanların dalaklarında $CD8^+$ T-hücrelerinde belirgin bir artış gözlenmektedir (Goff ve ark 2002).

Gama interferon (IFN-γ), tip-1 immun cevabın düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir. B hücrelerinde IgG_2'nin üretimini ve mononükleer fagositlerin (MP) aktivasyonunu sağlar. IgG_2 etkenin imhasını kolaylaştıran önemli bir izotiptir. Nitrik oksit (NO) üretimini sağlayan MP'yi aktive eder, MP'nin fagositozunu sağlar. NO, IFN-γ ile TNF-α'nın uyardığı MP'den oluşur (Goff ve ark 1998).

Doğal bağışıklıkta görev alan hücrelerin üzerinde, antijene ait yapıları tanıyan reseptörler bulunmaktadır. Bu reseptörler endositik, sekrete edilen ve sinyal ileten olmak üzere üç gruba ayrılır. Sinyal ileten reseptör grubunu Toll-like reseptörler (TLR) oluşturmaktadır. TLR, bir çok patojene karşı doğal bağışıklığın oluşmasını sağlayan bir grup tip 1 transmembran proteinidir. Aynı zamanda kazanılmış bağışıklığın da aktive olmasını sağlayarak konak savunmasında çok önemli role sahiptirler. Bunlar patojenlerin tanınmasında, inflamatuvar ve immun sistem cevabının başlatılmasında oldukça önemlidirler. TLR, patojene özel moleküller ile bağlandığında, bir dizi sinyal iletim yolağı aktive olur. Bunun sonucu olarak antimikrobiyal protein ve inflamatuvar sitokinler sentezlenir. Günümüzde, insan ve farede 10 adet TLR tanımlanmıştır (Turul ve Ersoy 2004). Babesiosise karşı doğal bağışıklıkta gerekli olan reseptör molekülü TLR9 ve TLR11'dir. Enfeksiyon sırasında, perifer kan mononükleer hücrelerindeki proliferasyonun aktif hale gelmesi TLR9 varlığında mümkün olabilmektedir (Homer ve ark 2000, Brown ve ark 2006).

Çalışmalar, sığır babesiosisine karşı şekillenen doğal direncin ırklar arasında farklı olduğunu göstermektedir. *Bos taurus* ırkı sığırların *B. bovis* enfeksiyonlarına karşı, *Bos indicus* (Zebu) ırkı sığırlardan daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Ancak *B. bigemina*'ya karşı duyarlılığın her iki ırktaki sığırlarda benzer olduğu ifade edilmiştir. Genel olarak İngiliz ve Avrupa ırkı sığırlar babesiosise daha duyarlıdırlar. Yerli ve melez sığır ırkları ise daha dirençlidirler (Callow 1984, Tonnesen 2005).

Babesiosise karşı koruyucu bağışıklık, immun serumla veya IgG_1 ile IgG_2'nin birlikte verilmesiyle de sağlanabilmektedir. *In vivo* denemeler, aktif makrofajlar ve

$CD4^+$'lerin babesiosise karşı oluşan doğal bağışıklıkta önemli rol oynadığını göstermektedir (Brown ve Palmer 1999).

Babesia bigemina'nın coğrafik suşları arasında immunolojik farklılıkların olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle bir bölgede *B. bigemina*'ya karşı bağışık hayvanların başka bir bölgeye götürüldüklerinde klinik enfeksiyona maruz kaldıkları saptanmıştır (Ristic 1984, Levine 1985, Soulsby 1987).

Babesia türlerinin antijenik varyasyonları ile ilgili çalışmalarda, *B. bigemina* için üç, *B. bovis* için ise 100'ün üzerinde antijenik tip tespit edilmiştir (Soulsby 1987). Antijenik varyasyon, protozoonlar arasında iyi bilinen bir özelliktir. Bazı parazitlerin, çevresel bir uyarıma karşı veya spesifik bir antikora karşı gösterdikleri dirençte önemli role sahip olan spesifik yüzey antijenleri vardır. Bu yüzey antijenleri değişken bir özelliğe ve antijenik spesifikliğe sahiptirler. Yüzey antijenlerindeki farklılık *Babesia* türleri arasında olduğu gibi, aynı türün coğrafik suşları arasında da olabilmektedir. (Mahoney 1977). Antijenik varyasyon durumu ilk kez *Trypanasoma*'larda gözlenmiştir. Levine (1985), *B. bigemina* ile diğer *Babesia* türleri arasında antijenik farklılıklarından dolayı çapraz reaksiyonların nadiren görülebileceğini belirtmiştir.

Kan parazitlerine karşı oluşan spesifik antikorlar, bazen heterolog antijenler ile de etkileşebilmektedir. Ortak epitoplardan dolayı oluşan bu etkileşime bağlı olarak çapraz reaksiyonlar oluşabilmekte ve yanlış pozitif sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. Bu yanlış pozitif sonuçlar, uygulanan testin spesifitesini azaltabilmektedir. Çapraz reaksiyonlar, bir soy içinde olabileceği gibi, başka parazitlerden de kaynaklanabilmektedir. Örneğin; Nierlich (1990), Gray ve ark'na atfen *B. bigemina* ile *Theileria parva* ve *T. annulata* arasında, Waltisbuhl ve ark'na atfen *A. marginale* ile *B. bovis* antijenleri arasında, James ve ark'na atfen de *B. bovis* ile *Plasmodium falciparum* arasında çapraz reaksiyonların olduğunu belirtmektedir. Serolojik testlerde antiserum ile şiddetli reaksiyon gösteren antijenleri (immunodominant antijenler) koruyucu bağışıklığa neden olan antijenlerle özdeşleştirmemek gerekir. İmmunodominant antijenler hastalıkların serodiagnozunda kullanılırlar ve bazen sentetik olarak da üretilebilmektedirler. Hatta bir parazite ait antikorları tespit etmek için başka bir parazitin antijenleri de kullanılabilmektedir. Örneğin; *Theileria sergenti* antikorlarının IFAT ile teşhisinde *B. ovata* antijenleri kullanılabilmektedir (Nierlich 1990). Düzgün ve ark (1992) da *B. bovis* antijenini kullanarak, *B. ovis* enfeksiyonunu ELISA ile teşhis etmişlerdir. Koyunlarda *B. ovis* ve *B.*

motasi'nin morfolojik ve antijenik yapıları farklıdır. Habela ve ark (1990) tarafından yapılan bir araştırmada, bu iki tür arasında çapraz reaksiyon olmadığı belirtilmektedir.

2.6.2. Kazanılmış bağışıklık

Hayvanlarda *Babesia* türleri ile doğal enfeksiyondan sonra, kuvvetli bir bağışıklık meydana gelmektedir. Oluşan bağışıklık, parazitin vücuda girişini önleyemez, ancak üremesini sınırlandırabilir. Doğal şartlar altında geçirilmiş ilk enfeksiyon, hayvanı ikinci enfeksiyona karşı korumaktadır (Callow ve ark 1974).

Babesiosise karşı kazanılmış bağışıklıkta hem humoral hem de hücresel faktörler yer almaktadır. Humoral bağışıklığın önemi, hücresel bağışıklığa göre daha sınırlıdır. Antikorlar eritrosit içindeki parazitlerden ziyade, plazmadaki serbest parazitler üzerine etkilidir. Bu sebeple antikorların koruyucu rolleri, parazitlerin eritrositlere girdikleri zamana kadar geçen süreyle sınırlıdır. Bu süre içerisinde IgG'ler sporozoitlere bağlanarak eritrositlere girmelerini engellerler (İnci ve ark 2007).

Kazanılmış bağışıklık, hiperimmun serumla bir hayvandan diğerine; kolostrum ile de anneden yavruya nakledilebilmektedir. Enfekte kene kullanılarak oluşturulan deneysel *B. bigemina* enfeksiyonlarında, anti-babesial antikorların enfeksiyondan sonraki 7-21 gün arasında oluştuğu bildirilmiştir. Antikorların 10 aydan daha fazla bir süre vücutta kaldığı belirlenmiştir. Mikroskobik muayenede kanda etkenlerin tespit edilemediği bu dönem süresince alınan kanın, dalağı çıkarılmış duyarlı danalara enjekte edilmesiyle enfeksiyonun şekillendiği bildirilmiştir. *Babesia bovi*s enfeksiyonundan iyileşen hayvanların 2-4 yıl reenfeksiyonlara dirençli oldukları gözlenmiştir (Soulsby 1987).

Enfeksiyona duyarlı danalara, antiserum vererek *B. bovis*'e karşı doğal enfeksiyondaki gibi etkin bir bağışıklığın pasif olarak sağlanabildiği de bildirilmiştir (Mahoney 1967).

2.6.2.1. Humoral immun yanıt

Sığır babesiosisinde humoral bağışıklığın önemi, hücresel bağışıklığa nazaran daha az olsa da yapılan çalışmalar, babesiosisde doğal pasif bağışıklığın kolostrumla sağlandığını göstermiştir (Hall 1960, Hall 1963). Mahoney (1967) *B. bovis* ile enfekte sığırdan elde ettiği serumu dalağı çıkarılmış duyarlı danalara inokule etmiş ve bu şekilde yapay pasif bağışıklığın sağlanabileceğini bildirmiştir.

Babesia türleri ile enfekte hayvanlarda, bu türlere karşı özel antikorlar oluşmaktadır. Babesiosisde şekillenen antikorların bir kısmı aktif kazanılmış bağışıklıkta görev alırken, bir kısmı da pasif olarak annenin kolostrumu ile yeni doğan hayvanlara geçmekte ve onları babesiosise karşı belli bir süre korumaktadırlar (Sevinç 1996). Anneden yavruya geçen pasif immunitede, antikorlar suş spesifitesi gösterir. Bu antikorlar, antijenik yapısı farklı olan suşlara karşı enfeksiyonun başlangıç döneminde kısmen etkili iken, enfeksiyon ilerledikten sonra bu etki kaybolmaktadır (Ristic 1984). Antijenik yapısı farklı olan her bir suşa karşı spesifik antikorlar oluşmaktadır. Böylece kolostral antikorlar, yaş direncini oluşturan mekanizmalar, preimmunisyon ve kazanılmış aktif bağışıklıkta rol oynayan faktörler babesiosise karşı hayvanları şiddetli enfeksiyonlardan korumaktadır (Ristic 1984).

Sporozoitlerin alyuvarlara girişi, alternatif komplement sistemin aktivasyonunu sağlarken, eritrositlerdeki *Babesia* antijenleri de antikor üretimini teşvik ederler. Antikorlar, eritrositleri opsonize ederek dalak orijinli makrofajlar tarafından yok edilmelerini kolaylaştırırlar. *Babesia* türleri, humoral immun yanıtı kendi yararına göre değiştirebilmektedirler. *B. bigemina* enfeksiyonunda, konak eritrosit yüzeyinde bulunan bir parazit proteini, IgM'yi bağlayarak parazitin gelişmesi ve hayatta kalmasında yararlı olmaktadır. Babesiosise karşı oluşan humoral bağışıklıkta komplement sistemin rolü, parazitlerin eritrositlere invazyonu sırasında ortaya çıkmaktadır (İnci ve ark 2007).

2.6.2.2. Hücresel immun yanıt

Sığır babesiosisinde hücresel bağışıklığın mekanizmaları henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak T hücrelerinin, hem antikor sentezinde hem de makrofajların aktivasyonunda rol oynadığı bildirilmiştir (Ristic ve Levy 1981, Carson ve Philips 1981).

Babesiosise karşı dirençte hücresel bağışıklığın rolü, konağın savunma sisteminde dalağın öneminin fark edilmesiyle ortaya çıkmıştır. Dalak; T, B ve NK hücreleri ile makrofajların yer aldığı büyük bir lenfoid organdır. Bu hücre populasyonlarının bazıları koruyucu etkiden sorumludurlar. T hücrelerin babesiosise karşı dirençte kritik öneme sahip olduğu ve ayrıca enfeksiyonun iyileşme döneminde de T hücre aracılı mekanizmaların rol aldığı bildirilmiştir (İnci ve ark 2007).

2.6.3. Yaş direnci

Yaş, sığır babesiosisinde önemli bir faktördür ve ciddi *Babesia* vakalarının sayısı yaşla birlikte artmaktadır. Enfeksiyonu daha önceden geçirmemiş annelerden doğan iki aylıktan küçük buzağılar, *B bovis* ve *B. bigemina* enfeksiyonlarına karşı oldukça hassastırlar. İmmun annelerden doğan buzağılar ise kolostrum yoluyla pasif bağışıklık kazandıklarından dolayı her iki parazite karşı da dirençlidirler. Buzağılar iki aydan sonra en az 4-6 ay devam eden non-spesifik doğal dirençle korunurlar. Bu nonspesifik direnç, annenin immun yapısına bağlı değildir. Buzağıların yaşamında 6 ile 9 ay arasındaki dönem kritiktir. Bu dönemde *Babesia* enfeksiyonuna maruz kalırlarsa endemik sabitlik oluşur. Daha sonraki dönemlerde ortaya çıkan primer enfeksiyonlar ise öldürücü olabilir (Geleta 2005).

Swai ve ark (2005), Tanzanya'da, kenelerle nakledilen enfeksiyonların (*Theileria parva, T. mutans, Anaplasma marginale, Babesia bigemina* ve *B. bovis*) özellikle iki yaşından büyük sığırlarda görüldüğünü, maternal antikorların da hayvanlar 18 haftalık olana kadar tespit edilebildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada bu parazitler için seroprevalansın yaşla birlikte arttığı tespit edilmiştir.

2.6.4. Preimmunisyon

Babesia enfeksiyonlarında, klinik iyileşmenin ardından, etkenler kandan uzaklaştırılır. Ancak az miktarda etken kanda birkaç yıl varlığına devam eder. Bu süre içerisinde parazit ve konak immun sistemi arasında bir denge oluşur. Bu denge preimmunite olarak tanımlanır ve konağın immun sisteminde bir zayıflama olmaz ise reenfeksiyonlara karşı hayvanları korumada büyük öneme sahip olan antikorların üretimini sürekli uyarır.

Preimmunisyon, protozoer hastalıklarda sık olarak rastlanan bir aktif bağışıklık şeklidir. Bu bağışıklık biçimi, ya akut enfeksiyonun atlatılmasından sonra veya uzun zaman aralığında azar azar enfeksiyöz ajana maruz kalma neticesinde oluşur ve endemik alanlarda hayvanları reenfeksiyonlara karşı korur. Ancak preimmun hayvanlar, vektör kenelerin yoğun olduğu alanlarda portör ödevi görmektedir. Bu sebeple, babesiosis görülmeyen bölgelerden, enfekte bölgelere sokulan hayvanlar, bu enfeksiyona çok hassas olduklarından kolayca enfekte olurlar. Preimmünisyon, babesiosise karşı koruyucu bağışıklıkta oldukça önemlidir. Premünisyonun etki ve süresi enfeksiyonun şiddetine ve

reenfeksiyonlara maruz kalıp kalmamaya bağlıdır. Primer enfeksiyon ne kadar şiddetli seyreder ve hayvanlar reenfeksiyonlara ne kadar fazla maruz kalırsa premünisyon da o kadar kuvvetlenir ve süresi de artar (Geleta 2005).

2.7. Babesiosisin Epidemiyolojisi

Babesiosisin epidemiyolojisinde vektör-konak arasındaki ilişkilerin belirlenmesi ve etkenin hem vektör kenelerde hem de omurgalı konaklarda teşhis edilmesi önemlidir. Ayrıca vektör kenelerin biyo-ekolojilerinin de bilinmesi gereklidir (Mahoney 1977, Anonim 1984, Young 1988).

Babesiosis *İxodidae* ailesindeki kenelerle bulaşan bir hastalıktır. Bulaşmada hem kenelerle hem de omurgalı konaklarla ilgili bazı faktörlerin bilinmesi babesiosisin epidemiyolojisini kavramada önemlidir. Bu faktörleri; enfeksiyonun gücü, ısı, nisbi nem ve ışık ve bağışıklık olmak üzere dört alt başlık altında incelemek mümkündür.

a. Enfeksiyonun gücü: Etkenin kene vücudunda çoğalması, yalnızca kenenin aktivasyon dönemi süresince meydana gelmektedir. Kenenin inaktif döneminde *Babesia*'lar da inaktif olarak beklemektedirler. Etkeni taşıyan kenelerin aktivasyon dönemine geçmesi ile birlikte, vücutlarındaki parazitlerde de bir proliferasyon başlar ve birkaç gün içinde parazitin sporokinetleri veya sporozoitleri oluşur. Kenenin ve *Babesia*'nın aktivasyonuna sebep olan esas faktör, çevre ısısının yükselmesidir. Laboratuar ortamında kenenin uygun ısıda inkubasyonu ile de benzer etkiler oluşturulabilmektedir. Kenenin vücudunda gelişme bir kez başladığında, *Babesia*lar, kenenin bütün gelişme dönemleri boyunca belirli organlara yerleşerek, yerleştikleri hücrelerde şekil değişikliğine sebep olmakta ve enfeksiyon normal seyrine devam etmektedir. Alimenter enfeksiyonlarda, ergin dişi kenenin yumurtlama dönemine geçmesiyle birlikte etkenler kenenin ovaryumuna doğru ilerlemektedirler. Bu yüzden yumurtlamanın ilk dönemlerinde yumurtalar enfektif değildir. Toplam yumurta sayısının ancak yarısı kadarı enfektif olmaktadır. Vertikal enfeksiyonda ise, etkenler ergin dişi kenenin vücudunda yumurtlama dönemi başlamadan önce ovaryuma yerleşmektedirler. Bu yüzden de yumurtalar bütün yumurtlama dönemi boyunca enfekte olabilmektedir. Vertikal ve alimenter enfeksiyonun birlikte görüldüğü durumlarda transovarial enfeksiyon daha yoğun olmaktadır. Bununla birlikte vertikal enfeksiyonun varlığında alimenter enfeksiyon kısmen engellenebilmektedir. Bu sebeple kombine enfeksiyonlardan sonra

enfeksiyonun derecesi farklı olabilmekte ve yumurtaların yaklaşık olarak %90'ı enfektif olmaktadır (Mahoney 1977, Friedhoff ve Smith 1981, Friedhoff 1988, Sevinç 1996).

b. Isı: Isı, *Babesia*'nın bütün hayat siklusu boyunca gelişmesini sınırlayan bir faktör değildir. Düşük ısı, enfeksiyonu tamamen ortadan kaldırmamakla birlikte, aç dişi bir kenede transovarial nakli ve alimenter enfeksiyonu tam olarak engellemektedir. Aç enfekte kenelerde, çevre ısısının yükselmesi ile kene vücudundaki *Babesia* enfeksiyonu aktif hale geçebilir. Ancak bu aktivasyon, kan emme ile sağlanan aktivasyon kadar etkili değildir (Friedhoff ve Smith 1981, Friedhoff 1988). *Babesia*'lar kış aylarında, -30ºC'nin altındaki ısılarda, inaktif dönemde bulunan kenelerin bünyelerinde inaktif halde beklemektedirler. Kenenin aktif döneminde etkenler çoğalmaya başladıkları zaman, daha yüksek bir çevre ısısı gerekmektedir. Ancak, yüksek ısının (35ºC gibi) devamı halinde, enfeksiyon inhibe olabilmekte, hatta tamamen ortadan kalkabilmektedir. Kene vücudunda parazitin gelişmesi üzerinde beslenmenin sağladığı uyarım, sıcak şok ile de harekete geçirilebilmektedir. Aç enfektif bir larva, 2-3 gün boyunca 37ºC'de inkubasyona tabi tutulursa, vücudundaki parazitler aktif hale geçebilmektedir. Ancak sıcak şok tek başına, beslenmenin sağladığı uyarım kadar tesirli olamamaktadır (Mahoney 1977, Friedhoff ve Smith 1981, Friedhoff 1988).

c. Nisbi nem ve ışık: Nisbi nem ve ışık, vektör kenelerin gelişmesi üzerinde önemli birer faktördür. Dolayısıyla *Babesia*'nın kene vücudundaki gelişmesini dolaylı olarak etkilemektedirler (Mahoney 1977, Friedhoff ve Smith 1981, Friedhoff 1988).

d. Bağışıklık: *Babesia* enfeksiyonundan sonra hayvanlar ikinci bir enfeksiyona karşı dayanıklıdırlar. Ayrıca yeni doğan hayvanlarda da babesiosise karşı pasif bir bağışıklık vardır (Blood ve Radostits 1989).

Konak spesifitesi, genetik yapı ve yaş gibi faktörler babesiosisin epidemiyolojisini nonspesifik olarak etkileyen unsurlardandır. Hayvanlarda yaşa bağlı olarak enfeksiyona karşı duyarlılık farklı olmaktadır (Mahoney 1977).

Babesia türleri heteroksen gelişme gösteren parazitlerdir. Biyolojilerinin bir kısmını koyun, keçi, sığır, köpek ve at gibi memelilerde, diğer bir kısmını da *Ixodidae* ailesindeki kenelerde geçirirler. *B. bigemina* sığırlarda parazitlenir. *Babesia*'lar *Ixodidae* ailesine bağlı keneler tarafından biyolojik olarak nakledilirler. Mekanik nakil nadiren görülebilirse de (Kuttler 1988), Friedhoff (1988)'a göre mekanik nakil söz konusu

değildir. Kan nakliyle ve prenatal yolla bulaşma da mümkündür, ancak bu tür bulaşma epidemiyolojik açıdan önemsizdir.

Babesia türleri keneler tarafından iki şekilde nakledilir. Bunlardan birincisi transovarial diğeri transtadial nakildir. Transovarial nakil daha çok tek konaklı kenelerde, transtadial nakil ise iki veya üç konaklı kenelerde önemlidir. Transovarial nakilde, dişi kenenin babesiosisli hayvanlardan aldıkları etkenler, kenenin ovaryumuna ve oradan da yumurtalarına geçerler. Yumurtadan çıkan larvaların büyük kısmı enfektif olarak toprağa yayılır. Larvalardaki etkenler kenenin sonraki gelişme safhalarına da geçerek, enfeksiyon devamlılık arz eder. Transtadial nakil, her hangi bir gelişme döneminde enfekte hayvandan kan emen kenenin, bir sonraki gelişme safhasında etkeni duyarlı bir konağa kan emme sırasında nakletmesi olayıdır. *Theileria* türlerinde olduğu gibi kene, etkenleri larva döneminde almışsa nimf döneminde, nimf döneminde almışsa ergin dönemde nakletmektedir (Mahoney 1977, Friedhoff ve Smith 1981, Friedhoff 1988, Sevinç 1996).

Transovarial nakil vertikal veya alimenter yolla olabilmektedir. Vertikal nakil, enfeksiyonu nakletme yeteneğine sahip olan kenelerin, esas konak dışında başka bir hayvan (örneğin, tavşan) üzerinde beslenmesi ile enfeksiyonun kene vücudunda devamlılığının sağlanması durumudur. Alimenter nakil ise kenenin enfeksiyonu taşıyan bir konak üzerinde beslenmesi ile sağlanmaktadır.

2.8. Babesiosisin Semptomları

Hastalığın kuluçka süresi birkaç gün ile birkaç hafta arasında değişmektedir. Bu sürenin sonunda hayvanlarda hastalığın klinik belirtileri ortaya çıkar. Akut babesiosisde klinik belirtiler yaklaşık bir hafta devam eder. Babesiosise ait ilk klinik belirtiler, perifer kandan hazırlanan frotilerde parazitin görülmeye başlaması ile belli olmakta ve genellikle vektör kenenin beslenmeye başlanmasından sonraki 8-16 gün içinde meydana gelmektedir. Hastalığın ilk belirtisi 41ºC veya daha yüksek ateştir. Bununla birlikte iştahsızlık, solunum sayısında artış, kas titremeleri, anemi, sarılık ve ağırlık kaybı da görülür. Daha sonra hemoglobinemi ve hemoglobinuri şekillenir. Ayrıca, bilhassa *B. bovis* enfeksiyonlarında, enfekte eritrositlerin beyin kapillarlarına yapışmasına bağlı olarak Merkezi Sinir Sistemi bozuklukları da şekillenebilir. Konstipasyon veya diare görülebilir. Gebeliğin son döneminde abort şekillenebilir. Hastalık boğalarda geçici infertiliteye neden olabilir (Hiepe ve Jungman 1983, Ristic 1984, Levine 1985, Soulsby 1987, Minjauw ve McLeod 2003).

Virulent *B. bovis* enfeksiyonlarında yaygın nonspesifik yangı, koagulasyon bozuklukları ve kapillarlarda eritrositik stazis ile kombine bir hipotensif şok sendromu görülür. Bu olaylar *B. bovis*'in patogenezinde ortaya çıkar. *B. bigemina*'nın patojenik etkileri ise daha çok eritrosit yıkımı ile alakalıdır. Parazit, eritrosit içinde sürekli aseksüel bölünmeyle çoğalarak intravasküler hemolize neden olur ve bunun sonucunda da hemolitik anemi şekillenir (Carpenter 2005).

Babesiosisde yüksek ateş, anemi, sarılık ve hemoglobinuri en karakteristik semptomlardandır. Bu semptomlar konak ve parazit türlerine göre farklılıklar gösterebilir. Hastalık semptomları konağa ait faktörlere ve alınan etken sayısına bağlı olarak, perakut, akut veya kronik olarak seyredebilir. Sığırlarda *Babesia* enfeksiyonlarının inkubasyon süresi yaklaşık 7-14 gün olup, 41-42ºC'ye çıkan yüksek ateş genellikle 2-7 gün devam eder. Bu dönemde ileri derecede anemi tablosu şekillenir. Ayrıca taşikardi ve hemoglobinuri ile birlikte, önce diare daha sonra konstipasyon gibi bağırsak bozuklukları görülür (Ristic 1984, Levine 1985, Soulsby 1987). Hastalığın akut döneminde eritrositler büyük oranda tahrip olur. Daha sonra akut hastalık tablosu, yerini kronik döneme bırakır. Kronik dönemde hemoglobinuri görülmez (Hiepe ve Jungman 1983, Ristic 1984, Levine 1985, Soulsby 1987). *Babesia bigemina* enfeksiyonlarında beyin kapillarlarının tıkanmasına bağlı olarak 12-36 saat içerisinde perakut ölüm şekillenebilir. Bu durum *Babesia bovis* enfeksiyonlarında daha sık görülmektedir (Soulsby 1987). *Babesia* enfeksiyonlarında klinik iyileşmeyi, etkenlerin kandan uzaklaştırılması izler. Bununla beraber latent enfeksiyon birkaç yıl devam eder.

Hayvanlar arasında babesiosisin klinik görünümündeki farklılıklar, hem konağa hem de *Babesia* türüne ait karakterlerle ilgilidir. *Babesia* cinsindeki türler, hatta türler içindeki suşlar, tek tipte bir patojenite göstermemektedirler. Örneğin, *B. bigemina*'nın Avustralya suşu nadiren hastalığa sebep olurken, Afrika suşu çok patojendir. *B. bovis*'in beyin ve böbrekteki kapillar damarlara yerleşme eğilimi vardır ve sık sık bu organlarda hasara sebep olarak, bu hayvanlarda ilgili klinik belirtilerin şekillenmesine yol açar. Oysa *B. bigemina* çoğunlukla dolaşım kanında bulunur ve klinik görünüm hemolitik anemiye benzemektedir (Wright 1990). Ayrıca konağın duyarlılığı, yaş, ırk, stres ve pasif bağışıklık gibi faktörlere bağlı olarak klinik görünüm değişiklik gösterebilmektedir.

Babesiosisli hayvanlarda hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde de değişiklikler olmaktadır. *Babesia bigemina* ile enfekte sığırlarda hastalığın süresi ve

şiddetine bağlı olarak eritrosit sayısı, hemoglobin miktarı ve hematokrit değerlerde önemli derecede azalmalar olmaktadır. Serumda transaminazlar (SGOT, SGPT), alkalin fosfataz, konjuge olmamış bilirubin ve kan üre nitrojen seviyelerinde bir yükselme ve enfeksiyonun geç döneminde kalsiyumda bir azalma görülmektedir. Total serum proteinlerinde ise biraz azalma dikkati çekmektedir. Plazma fibrinojeninin yapısında da değişiklikler olmaktadır (Mimioğlu ve ark 1969, Mahoney 1977, Kuttler 1988, Habela ve ark 1991, Sevinç 1996).

2.9. Babesiosisin Patolojisi

Babesiosisde patogenez ve patolojinin mekanizmaları henüz tam anlamıyla belirlenememiştir. Bununla birlikte, deneysel olarak oluşturulan *B. bovis* enfeksiyonlarında patogenez ve patolojik değişiklikler kısmen tespit edilmiştir. Babesiosisin patogenezinde konakta oluşan şu iki olay merkezi bir role sahiptir:

1. Farmakolojik olarak aktif maddelerin salgılanması

2. Eritrositlerin yıkımı

Babesiosisde ortaya çıkan aneminin oluşumunda kallikrein-kinin sisteminin özel bir yeri vardır. *Babesia* enfeksiyonunda, eritrosit yıkımından hemen önce plasmadaki kallikrein aktif hale geçmektedir. Bu olay, enfeksiyonun başlamasından hemen sonra antijen-antikor reaksiyonu veya doku hasar ürünleri ile ilgili olarak meydana gelmektedir. Parazitler *in vivo* ortamda plazmadaki kallikreini aktive eden maddeler salgılamaktadırlar. Kallikrein üretimi ile vasküler permeabilite ve vasodilatasyon artmakta, bunun sonucu olarak da dolaşımda durgunluk ve şok meydana gelmektedir. *Babesia* enfeksiyonunun son safhaları yüksek parazitemi (%20 üzeri) ve çok düşük hematokrit (%10'dan az) ile karakterizedir. Babesiosisde eritrositlerin yıkımı ile çoğalmaya devam eden parazitler hız kazanmakta ve hematokrit değerde çok hızlı bir düşüş görülmektedir. Şoktan dolayı dolaşım sisteminde ortaya çıkan aksaklıklara bağlı olarak kapillar damarlarda genişlemeler, dolaşımda durgunluk ve vasodilatorik şok meydana gelir. Ayrıca etkene bağlı bazı enzimlerin, kapillar damar endotellerinde ve eritrositlerde yapışmalara sebep olması dolayısıyla çeşitli organlarda, özellikle karaciğerde sentrolobuler nekroz odaklar, böbreklerde kortikal tubul dejenerasyonları, iskelet ve kalp kaslarında ağır hasarlar oluşur. Bütün bu patolojik olaylara bağlı olarak fizyolojik bozukluklar, beyin kapillarlarındaki yapışma ve tıkanmalara bağlı olarak da

MSS bozuklukları ortaya çıkar (Mimioğlu ve ark 1969, Mahoney 1977, Kuttler 1988, Blood ve Radostits 1989).

Hastalıktan ölen hayvanların otopsisinde, karaciğer ve dalakta büyüme, safra kesesinin koyu renkli safra ile dolu olması, idrar kesesinin genişlemiş, duvarının incelmiş ve koyu renkli idrarla dolup gerginleşmiş olması; konjuktivalar, yağlar ve deri altı bağ dokusunun anemik, peteşiyel kanamalı ve sararmış olması hastalık için spesifik makroskobik bulgulardandır. Ayrıca epikardiyum ve endokardiyumda hemoraji, beyinde konjesyon, akciğerlerde peteşiyel kanamalar ve ödem, glomerulonefritis, merkezi sinir sistemi harabiyeti de bu hastalıkta görülen patolojik bulgulardandır. Sığırlarda *B. bigemina* enfeksiyonunun ölümden hemen sonra kalp, akciğer ve böbrekten yapılan frotilerde teşhis edilebildiği, sonraki saatlerde ise morfolojik yapısının *B. argentina* ile karıştırıldığı için teşhisinin güç olduğu bildirilmiştir (Soulsby 1986, Kreier ve Baker 1987, Sevinç 1996, Yukarı ve Karaer 1996, De Vos ve ark 2000, Dik ve Sevinç 2002, Sevinç ve ark 2005).

2.10. Babesiosisin Teşhisi

Babesiosisin teşhisinde klinik, mikroskobik ve serolojik teşhis yöntemleri uygulanır. Ayrıca son yıllarda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Reverse Line Blotting (RLB) gibi moleküler tanı yöntemleri de yaygın olarak kullanılmaktadır (Bose ve ark 1995, Georges ve ark 2001, Bock ve ark 2004). PZR yöntemi, gerek latent ve subklinik seyirli taşıyıcı durumdaki hayvanların tespitinde, gerekse hastalığa sebep olan *Babesia* türlerinin saptanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de sığır babesiosisinin PZR ile teşhisi ilk kez Tanyüksel ve ark (2002) tarafından Orta Anadolu'da yapılmış ve *B. bigemina* pozitifliği %5-%8.45, *B. bovis* pozitifliği ise %12.68 olarak bulunmuştur. RLB yönteminin, *Babesia* türlerinin teşhisinde, bir defada birden fazla parazit türünün teşhisine olanak sağladığı ve aynı zamanda PZR'a göre daha duyarlı olan bir yöntem olduğu belirtilmektedir (Georges ve ark 2001, İça 2004).

2.10.1. Klinik teşhis

Hastalığın endemik olduğu bölgelerde, hayvanlarda yüksek ateş, anemi, sarılık ve hemoglobinuri gibi patognomik semptomların görülmesi ve vektör kenelerin mevcudiyeti babesiosisi düşündürür. Hemoglobin miktarı ile eritrosit sayısındaki düşme ve ayrıca

sedimentasyon oranındaki artış teşhisi destekleyici kriterler olarak değerlendirilmektedir (Hiepe and Jungman 1983, Anon 1984, Levine 1985, Soulsby 1987).

2.10.2. Mikroskobik teşhis

Hastalığın kesin teşhisi kan frotilerinde etkenlerin görülmesiyle konur. Bunun için sığır, koyun, keçi gibi hayvanların kulak uçlarından birer damla kan alınarak sürme ve kalın damla frotiler hazırlanır. Sürme frotiler metil alkolle (metanol) tespit edildikten sonra, kalın damla frotiler ise tespit edilmeden Giemsa solüsyonu ile boyanır ve mikroskopta immersiyon objektifte incelenir. Eritrositlerde piroplasm formların görülmesiyle teşhis konur. *B. bigemina*'nın piroplasm formları 4-5µm uzunluğunda, 2µm genişliğinde olup, eritrositler içerisinde karakteristik olarak tek veya çift armut şeklinde yer alır, çift armut formlarının aralarındaki açı dardır. Ayrıca eritrositler içerisinde oval, yuvarlak veya amöboid formları da görülebilir (Hiepe ve Jungman 1983, Levine 1985, Soulsby 1987, Minjauw ve McLeod 2003). Babesiosisde paraziteminin tespiti için sürme ve kalın damla frotilerin birlikte yapılması uygun görülmektedir. Frotilerin boyanması, Alkyl Phenoxy Polyethoxy Ethanol (APPE) içeren fosfat tamponlu Giemsa boya solüsyonu ile yapılmaktadır (Bishop ve Adams 1973).

Hastalığın başlangıç döneminde ve ateşin düşmesinden sonraki dönemde enfekte eritrosit sayısı az olduğu için, değişik saatlerde ve çok miktarda froti yapmak suretiyle teşhis yapılmalıdır (Hiepe and Jungman 1983, Soulsby 1987). *B. bigemina* ve *B. bovis* enfeksiyonlarının serebral formunda otopside genellikle beyinden hazırlanan frotilerden de yararlanılmaktadır (Ristic 1981, Soulsby 1987). Babesiosisden ölen hayvanların karaciğer, kalp kası, böbrek ve dalak gibi organlarından yapılan ince frotiler de teşhis amacıyla kullanılmaktadır (Hiepe and Jungman 1983, Ristic 1984, Soulsby 1987). Sığırlarda babesiosisin post mortem tanısında, mikroskobik muayene ile birlikte Fluoresan Antikor testi de kullanılabilmektedir (Johnston ve ark 1977). *B. argentina*'nın post mortem teşhisinde, beyinden hazırlanan frotilerin ölümden 28 saat sonrasına kadar; kalp, akciğer ve böbrekten hazırlanan sürme frotilerin ise ölümden sekiz saat sonrasına kadar hazırlanabileceği bildirilmiştir. Direkt Fluoresan Antikor testi ile ölümden sonra kalp ve akciğer frotilerinde 12 saat, böbrek frotilerinde 16 saat, beyin frotilerinde ise 28 saat içinde teşhis yapılabilmektedir. *B. bigemina* enfeksiyonunun post mortem teşhisi için kalp, akciğer ve böbrek frotilerinin ölümden hemen sonra yapılması gerekmektedir. Daha sonraki saatlerde *B. bigemina*'nın morfolojik yapısı *B. argentina*'ya benzemektedir.

(Mahoney 1977, Johnston ve ark 1977, Levine 1985, Kreier ve Baker 1987, Blood ve Radostits 1989).

2.10.3. Serolojik teşhis

Hayvanlarda akut babesiosisin teşhisi için, hastalığa ait patognomik belirtilerin gözlenmesi ve kan preparatlarının mikroskobik muayenesi genellikle yeterli olmaktadır. Ancak akut enfeksiyonu atlatan hayvanların kanında etkenler uzun süre varlıklarını devam ettirirler. Böyle hayvanlarda parazitemi oranının çok düşük seviyede olmasından dolayı, kan frotilerinin mikroskobik muayenelerinde etkenler kolayca tespit edilememektedir. Ayrıca enfeksiyona bir defa maruz kalan hayvanlar, hastalığa ait klinik belirti göstersin veya göstermesin, etkenler kanda uzun yıllar kalabilir. Böyle hayvanlar, vektör kenelerin de varlığında, diğer duyarlı hayvanlar için enfeksiyon kaynağıdırlar. "Latent enfekte" veya "taşıyıcı" olarak tanımlanan bu hayvanlarda etken teşhisi mikroskobik kan muayenesiyle mümkün olmamaktadır. Bu tip hayvanlarda etkenin teşhis edilebilmesi için çeşitli serolojik ve moleküler teknikler kullanılmaktadır. Serolojik tekniklerle genellikle etkene özel antikorlar aranarak, hastalığın indirekt teşhisi yapılmış olur. Serolojik testlerde kullanılan antijenler, akut babesiosisli hayvanların enfekte eritrositlerinden, plazma, serum veya dokularından hazırlanır ve bir çok serolojik testte kullanılırlar (Todorovic ve Carson 1981). Serolojik teşhis metotları geçmişten günümüze kadar babesiosisin yayılışı ile ilgili epidemiyolojik araştırmalarda, eşsiz bir uygulama alanı olmuştur. Doğal veya deneysel babesiosise karşı oluşan antikorların tespit edilmesinde kullanılan immunodiagnostik metotlar; Indirekt Fluoresan Antikor Testi (IFAT), Enzim Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), Direkt Fluoresan Antikor Testi (FA), Indirekt Hemaglutinasyon (IHA), Kard Aglutinasyon (KA), Komplement Fikzasyon Testi (CFT), Serum Kard Testi (KT), Gel Presipitasyon (GP), Latex Aglutinasyon Testi (LAT), Radio Immuno Assay (RIA), Bentonite Aglutinasyon Testi (BAT), Serum-Slide Aglutinasyon Testi (SAT) ve Slide Enzim Linked Immuno Sorbent Assay (SELISA)'dir (Ross ve Lohr 1968, Mahoney 1977, Johnston ve ark 1977, Hiepe ve Jungman 1983, Ristic 1984, Soulsby 1987, Weiland ve Reiter 1988, İnci 1992, Geleta 2005).

Babesiosisin serolojik teşhisinde en eski olan ve en çok kullanılan test, IFA testidir. Epidemiyolojik çalışmalarda fazla sayıda hayvan incelenmesi ve daha güvenilir sonuçların elde edilebilmesi için duyarlı başka testler de kullanılabilmektedir. ELISA ve Western blotting bu amaçla kullanılan duyarlı testlerdendir. Nükleik asit probları ve

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), da bu amaçla kullanılabilmektedir. Ancak, PZR için çok pahalı alet ve ekipman gerekmektedir. Nükleik asit probları da türe özgü olmalarına rağmen oldukça duyarsızdır. Bu sebeplerden dolayı PZR ve Nükleik asit probları, geniş çaplı epidemiyolojik araştırmalar için kullanışsızdır. PZR metodu oldukça duyarlı bir metot olmasına rağmen, farklı DNA'larla kontaminasyon riski olduğundan, çok dikkatli çalışılmalıdır (Minjauw ve McLeod 2003).

Serolojik testlerin duyarlılık ve özgüllükleri, kullanılan antijenin hazırlanmasına bağlıdır. Serolojik testlerin çoğunda, kullanılan antijenlerin esas kaynağını, yüksek parazitemi derecesinde bulunan enfekte hayvan kanı oluşturmaktadır. Parazitemi oranı %2'den az olan kandan hazırlanan antijenin, Komplement Fikzasyon Testinde zayıf reaksiyon verdiği bildirilmektedir.

Deneysel çalışmalarda babesiosis, antikoaguantlı enfekte kanın intravenöz, subkutan veya intraperitoneal olarak enjekte edilmesi ile oluşturulmaktadır. *Babesia*'lar antikoagulantlı kanda, 18-25 ºC'lik bir ısıda, uzun süre (1-6 hafta) muhafaza edilebilmektedir. Akut enfeksiyon sırasında ölen hayvanlarda karkasın sertleşmesiyle birlikte *Babesia*'ların virulansı hızla kaybolmaktadır. Özellikle küçük damarlarda, ortamın asidifikasyonundan dolayı etkenler daha kısa sürede virulansını kaybetmektedir. Büyük damarlarda ise virulans uzun süre devam edebilmektedir. Bu sebeple ölümden hemen sonra büyük damarlardan alınan enfektif kan, deneysel çalışmalar için kullanılabilir. Enfekte kanın -10 ile -15 ºC'de dondurulması, etkenlerin 12 saat içinde ölmelerine sebep olmaktadır. Ancak, enfekte kan -70 ºC'de veya likid nitrojende muhafaza edilirse, yıllarca virulent olarak kalabilmektedir. Deneysel enfeksiyonlarda kullanılan parazitlerin suşu mümkün olduğu kadar doğal suşlara yakın olmalıdır. Parazitin çok sayıda üretilmesi amacıyla yapılan kültivasyonlarda pasaj sayısının artması, antijenin özgüllüğünü azaltabilmektedir. Antijen üretimi için paraziteminin mutlaka yüksek olması gerekmektedir. Bunu sağlamak için etkenin üretileceği hayvanlara splenektomi operasyonunun yanı sıra, immun sistemi baskılayıcı ilaçlar uygulanmaktadır (Mahoney ve Saal 1961, Mahoney 1967, Sevinç 1996).

Anti-babesial antikorların tespiti için geliştirilmiş olan ilk serolojik test, Komplement Fikzasyon testidir (CFT). Bu test *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. equi*, *B. caballi*, *B. canis*, *B. argentina* ve *B. ovis* enfeksiyonlarının teşhisinde kullanılmıştır (Mahoney 1967). Bu testin özgüllüğü sığırlarda çok yüksektir. Yanlış pozitiflik oranı %1-2

civarındadır. Ancak antikorların enfeksiyondan sonra yalnızca birkaç ay için tespit edilebilmesinden dolayı, duyarlılığı düşüktür. Enzootik durumlar için etkili bir tanı metodu değildir (Mahoney 1977, Todorovic ve Carson 1981, Nierlich 1990). Kuttler ve arkadaşları (1977) *B. bigemina* ile enfekte beş sığırda, enfeksiyonun ilk 84 günü içerisinde spesifik antikorların CFT ve IFAT ile saptanabildiğini bulmuşlar, inceledikleri 57 serumdan IFAT ile % 100'ünde, CFT ile % 95'inde pozitif reaksiyon elde etmişlerdir. Diğer taraftan enfeksiyondan sonraki 98-175'inci günler arasında toplanan serumların CFT ile ancak % 40'ında, IFAT ile de % 95'inde *B. bigemina*'ya karşı spesifik antikorların tespit edilebildiğini bildirmişlerdir. Todoroviç (1975) de IFA testinin daha yüksek titrelerde sonuç vermesi nedeniyle CF testinden daha duyarlı olduğunu ileri sürmüştür. Fujinaga ve Minami (1980) *B. ovata* ve *Theileria sergenti* ile yaptıkları deneysel enfeksiyonlarda, perifer kanda parazitlerin görünmesinden 70 gün sonrasına kadar alınan serumlarda CF testi ile antikorlara rastlamışlar, daha sonraki günlerde antikor titrelerinin düştüğünü, 270'inci günden sonra da serumda antikorların tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Buna karşılık IFAT ile yaptıkları incelemelerde enfekte hayvanların kanında parazitin ilk görüldüğü günden 420 gün sonrasına kadar serumda antikorların tespit edilebildiğini ifade etmişlerdir.

Humoral immun cevabın ölçülmesinde, tüp aglutinasyon, pasif aglutinasyon, bentonit aglutinasyon, jel presipitasyon, lateks aglutinasyon, kard aglutinasyon ve slide aglutinasyon testleri gibi Aglutinasyon testleri de kullanılmıştır. Saha şartlarında da uygulanabilen bir test olan Direkt aglutinasyon testi, bilinen bir antijen ile şüpheli bir serum veya plazmanın karıştırılması ile yapılmaktadır. Basit ve hızlı olan bu test, sürülerde hastalığın kontrol edilmesi ve veteriner hekimler tarafından saha şartlarında hastalığın hemen tanınması açısından, önemlidir (Goodger ve Mahoney 1974). Latex Agglutination Testi, IFAT ile karşılaştırıldığında IFAT daha duyarlı bir testtir. Buna karşılık LAT'ın daha kolay uygulanabilir bir test olduğu bildirilmektedir (Eren 1992).

Babesiosisin teşhisinde kullanılan serolojik testlerden birisi olan RIA'nın IFAT ile uyumlu olduğu, *B. bovis* enfeksiyonunun teşhisinde duyarlılık ve özgüllüklerinin yüksek olduğu bildirilmektedir. Ancak, RIA çalışmak için özel donanımlı laboratuvarlara ihtiyaç duyulur. Çalışmalarda kullanılan radyoaktif izotoplar, personel sağlığı için tehlike arz ettiği için bu teknik, *Babesia* enfeksiyonlarının teşhisinde geniş bir uygulama alanı oluşturamamıştır (Mahoney 1977, Nierlich 1990, Minjauw ve McLeod 2003).

ELISA testi *Babesia* türlerine karşı oluşan antikorların tespit edilmesinde kullanılan çok hassas ve ekonomik testlerden biridir (Engvall ve Perlmann 1972, Mahoney 1977, Young ve Purnell 1980, Ristic 1984, Nierlich 1990, Woodford ve ark 1990, Düzgün ve ark 1992) ve diğer paraziter hastalıkların tanısında da yaygın olarak kullanılmaktadır. ELISA testi ile anti-babesial antikorların tespiti, ilk kez Purnell ve ark (1976) tarafından yapılmıştır. Bu araştırıcılar (Purnell ve ark 1976), ELISA testini *B. divergens* ile enfekte sığır serumu ve homolog somatik extrakt antijeni kullanarak uygulamışlardır. ELISA testinin *B. divergens* veya *B. major*'un teşhisinde IFAT ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir (Bidwell ve ark 1978). Köpeklerde *B. canis* ve *B. gibsoni* ile deneysel enfeksiyonun ELISA ile serodiagnozunda *B. rodhaini* antijeninin kullanılabileceği ifade edilmektedir (Weiland ve Reiter 1988). Filtre kağıdında kurutulmuş enfekte kan örneklerinin antijen olarak kullanılmasıyla, *B. divergens* enfeksiyonunun ELISA ile teşhisinin mümkün olabileceği de belirtilmektedir (Nierlich 1990). Sığırlarda babesiosisin serolojik tanısında ELISA testinin, IFAT ve CFT'ne göre daha kullanışlı olduğu bildirilmiştir (Bidwell ve ark 1978). Sero-epidemiyolojik çalışmalarda, rekombinant antijenler kullanılarak yapılan ELISA testinin daha iyi sonuç vereceği bildirilmektedir (Cringoli ve ark 2002). Kun'gu ve Goodger (1990), modifiye bir ELISA tekniği olan Slide Enzim Linked Immuno Sorbent Assay ile de *B. bovis*'e spesifik antikorların saptanabileceğini bildirmişlerdir. Türkiye'de veteriner protozooloji sahasında ELISA testi ilk kez Düzgün ve ark (1988) tarafından, sığırlarda *A. marginale* enfeksiyonunun teşhisinde kullanılmıştır. Düzgün ve ark (1992), ELISA'yı sığırlarda *B. bovis*, koyunlarda *B. ovis* enfeksiyonlarının serolojik teşhisinde de uygulamışlardır. Bu test koyunlarda *B. ovis* enfeksiyonunun serolojik teşhisi amacıyla birçok araştırmada (Sevinç ve ark 1996, Aktaş ve ark 2001) kullanılmıştır.

Hemaglutinasyon testinin doğal *Babesia* enfeksiyonlarında duyarlılığı %99.3, deneysel enfeksiyonlarda da %100 olmasına rağmen, özgüllüğünün düşük olması nedeniyle genellikle tercih edilmeyen bir metot olduğu ifade edilmektedir (Goodger ve Mahoney 1974).

Indirekt Hemaglutinasyon ve Kapillar Aglutinasyon testleri de, uzun süren latent enfeksiyonların teşhisinde yararlanılan metotlardandır (Ristic 1984). Indirekt Hemaglutinasyon testinin duyarlılık ve özgüllüğü CFT'de olduğu gibidir. Bu test babesiosisin serodiagnozunda yaygın bir uygulama metodu olamamıştır (Mahoney 1977, Nierlich 1990).

Anti-babesial antikorların tespitinde kullanılan IFAT, özgül olması ve hastalığın her döneminde kullanılabilmesi nedeniyle en çok tercih edileni olup, *Babesia* türlerinin identifikasyonunda da güvenle kullanılmaktadır (Todorovic 1975, Johnston ve ark 1977, Bidwell ve ark 1978). İndirekt Antikor Fluoresan Testinin CFT'den daha özgül ve hassas olduğu ve *Babesia* enfeksiyonlarının daha doğru teşhis edilebilmeleri için, CFT ve IFAT'ın birlikte kullanılmasının daha uygun olacağı belirtilmiştir (Kuttler ve ark 1977, Tenter ve Friedhoff 1986). IFAT ile tespit edilen antikorlar, enfeksiyonun başlamasından kısa bir süre sonra yükselmeye başlamakta ve uzun bir süre kandaki varlığına devam etmektedir. Testin duyarlılığı ve özgüllüğü, kullanılan antijenin hazırlanma şekline göre değişebilmektedir. Testte kullanılan antijeni hazırlamak oldukça kolaydır. Enfekte eritrositler 2100 rpm' de PBS ile 3 kez yıkandıktan sonra direkt olarak özel hazırlanmış temiz lamlar üzerine damlatılır. Bu lamlar Aseton gibi tespit solüsyonları ile tespit edildikten sonra veya hiç edilmeden de kullanılabilmektedir. Bu testin duyarlılığı oldukça yüksektir (%97-98). Johnston ve ark (1973), sığırlarda *B. argentina*'nın teşhisinde IFAT'ı uygulamışlar ve güvenilirlik derecesini %95, yanlış pozitiflik ve yanlış negatiflik oranlarını da sırasıyla (0.02- 0.05) ve (0.001- 0.01) olarak bildirmişlerdir. Ross ve Lohr (1968), sığırlarda *B. bigemina* enfeksiyonunun serolojik teşhisinde IFAT'ın %100 güvenle kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Hadani ve ark. (1983) *B. bovis*'in teşhisi için IFAT ile birlikte beyinden hazırlanan sürme preparatları da mikroskobik muayene ile incelemişler ve hayvanların %51'inin IFAT ile seropozitif olduklarını, beyin frotilerinin mikroskobik muayenesinde de hayvanların %42'sinin pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. IFAT ile kene vücudundaki *Babesia*'ların gelişme dönemleri de tespit edilebilmektedir (Morzaria ve Young 1977). Daha birçok araştırıcı (Ross ve Lohr 1968, Callow ve ark 1974, Çakmak 1987) IFAT'ı babesiosisin teşhisinde başarıyla kullanmışlardır. Eren (1992)'e göre, IFAT ilk olarak Ristic ve Sibinoviç tarafından 1964 yılında atlardaki *B. caballi*'nin teşhisinde kullanılmıştır. Bu testle *B. bovis* enfeksiyonlarında yanılma oranının %0.3, güvenilirlik oranının ise %95 olduğu bildirilmektedir (Ristic 1981, Ristic 1984). Indirekt fluoresan antikor testinin esası, antijen- antikor reaksiyonuna dayanmakta ve bu reaksiyon, fluoresan boyalarla işaretlenmiş antikor moleküllerinin, fluoresan mikroskopta yeşilimsi-sarı renkte fluoresan ışık vermesiyle anlaşılmaktadır (Anon 1984, Wright 1990). Bu metotta aynı hayvan türüne ait bir konjuge antiglobulin kullanılarak, bilinen bir antijenin yardımıyla, kanda o antijene spesifik olan antikorlar araştırılmaktadır.

Canlı *Babesia* aşısı ile aşılanan sığırlarda da koruyucu antikorların varlığı, IFAT ile ölçülebilmektedir (Guglielmone ve ark 1997).

Indirekt fluoresan antikor testi, fluoresan mikroskop hariç, özel bir cihaza ihtiyaç duyulmadan, antijen slaytlarının akut enfekte hayvan kanı kullanılarak kolaylıkla hazırlanabilmesi ve diğer testlerle kıyaslandığında maliyetinin düşük olması dolayısıyla büyük avantajlara sahiptir. IFA test antijenleri, parazitemi seviyesi yüksek olan akut parazitemili (%2-5) sığır kanından hazırlanır. Bunun için, enfekte kan uygun antikoagulanta (sodyum sitrat veya EDTA) alınır, plazma proteinlerinden ve konak immunglobulinlerinden arındırılmak amacıyla en az üç kez PBS ile yıkandıktan sonra enfekte eritrositler iki kat oranda PBS ile sulandırılarak, üzerinde çok sayıda kuyucuğun bulunduğu özel lamların (multi test slide) her bir kuyucuğuna eşit oranda damlatılır. Oda ısısında kurutulduktan sonra alüminyum folyo ile paketlenir ve kullanılıncaya kadar –80 °C'de saklanır (De Vos ve ark 2000).

Indirekt fluoresan antikor testinin çalışma ilkesi, seri sulandırmaları yapılmış şüpheli serumların, daha önceden hazırlanmış antijen lamlarının üzerine damlatıldıktan sonra 37°C'de inkübasyona bırakılması, ardından da yıkama işleminin yapılması, daha sonra da antijen-antikor reaksiyonunun meydana gelip gelmediğini anlamak için flouresceine isotiocyanate ile işaretli spesifik antikorların (anti-globulin) damlatılması, tekrar 37°C'de 30 dk inkübasyon ve yeniden yıkama aşamasından sonra fluoresan mikroskop altında reaksiyonun gösterilmesi aşamalarından oluşur. Spesifik antikorlar, fluoresan veren bir madde olan flouresceine isotiocyanate yardımıyla görülür hale getirilmektedir. Spesifik olmayan fluoresan veya yeşil ışığı maskelemek için Evans blue gibi karşıt boyama yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Test, immunfluoresans mikroskobunda değerlendirilmekte, genellikle parazitin çeperinde veya çekirdeğinde oluşan yeşil-sarı renkteki fluoresan ışık, pozitifliği göstermektedir. Buna karşın negatif olgularda parazitler kırmızı renkte görünmektedirler (Özcel ve ark 1997). Bu metot ile yüzey antijenleri değerlendirilebildiği gibi, parazit içindeki antijenler de değerlendirilebilmektedir. Bütün özel immunglobulin gruplarının (IgG, IgM, vb.) ortaya çıkarılması için IFA tekniğinden yararlanılabilmektedir.

Indirekt fluoresan antikor testi paraziter immunolojinin gelişmesinde önemli katkılar sağlamış ve diğer birçok testin uygulanması sırasında referans test olarak

kullanılmıştır. Bu testin birçok avantajlarının yanı sıra, özellikle reaksiyonun okunması ve pozitiflik sınırının belirlenmesi sırasında bir takım güçlükleri de vardır.

Protozoonların serolojik tanısında kullanılan antijenler, bu organizmaları yeterli sayıda içerecek şekilde hazırlanan süspansiyonların lam üzerine sabitlenmesiyle hazırlanmaktadır. Antijenlerin, üzerinde içi boş daireler olan özel lamlara fikzasyonu antijen tasarrufunun yanı sıra testin hazırlanması ve mikroskopta değerlendirilmesi sırasında kolaylıklar sağlamaktadır. Antijenli lamlar -20 ºC'de veya daha verimli olması isteniyorsa -70 ºC -80 ºC 'de uzun süre saklanabilmektedir. Derin dondurucuda saklanan antijenli lamların sık sık çözdürülüp dondurulmasından sakınılması gerektiği bildirilmektedir (Özcel ve ark 1997).

Test edilecek serumlar, pH'sı 7.2 olan fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile, istenilen dilüsyonlarda seri olarak sulandırılırlar. Bu sulandırmaların her biri, antijenle kaplanmış lamların gözlerine damlatılır. Bu sırada serum sulandırmalarının birbiriyle karışmamalarına özen gösterilmelidir. Bu lamlar, antijen-antikor reaksiyonunun oluşması için nemli ve kapaklı bir kap içerisinde, 37ºC'lik bir etüvde 30 dk. bekletilir. Bu sürenin sonunda lamlar, içinde PBS bulunan kaplar içine daldırılır ve en az iki kez beşer dakika yıkanır. Her yıkamada PBS yenilenir. Bu yıkama işlemi ile, antijene bağlanmamış non-spesifik antikorların lamdan uzaklaşması sağlanmış olur. Yıkanan lamlar, oda ısısında kurutulduktan sonra optimal sulandırması yapılmış fluoresans konjuge (anti-IgG veya anti-IgM) ile kaplanır. İstenirse (özellikle helmint antijenlerinde) zıt boyama yapmak da mümkündür. Bunun için işaretli antiglobulinler (konjuge) direkt olarak önceden hazırlanmış 1/10.000'lik Evans blue ile sulandırılmaktadır (Özcel ve ark 1997). Bundan sonra preparatlar yine nemli bir kap içerisinde ve 37ºC'lik bir etüvde ikinci kez 30 dk. inkübe edilmektedir. Bu sürenin sonunda lamlar önceden olduğu gibi PBS ile iki kez beşer dakika yıkanmakta ve preparatların kuruması beklenmeden, tamponlu gliserin veya immunfluoresans için özel hazırlanmış montaj sıvısıyla kaplanarak üzerleri lamelle kapatılmaktadır.

Testin sağlıklı değerlendirilebilmesi için, IFAT ile yapılan incelemelerin her serisinde, antikor titresi bilinen pozitif referans serum, negatif referans serum, konjuge ve PBS de şüpheli seruma yapılan işlemlerin aynılarına tabi tutulmalıdır.

Antijen-antikor reaksiyonunun okunması fluoresan mikroskop ile yapılmaktadır. Mikroskopta testin değerlendirilmesi sırasında, mümkün olan en küçük objektiften

yararlanılmalıdır. Böylece parazitleri daha geniş bir alanda değerlendirmek mümkün olmaktadır. Değerlendirme sırasında gözü kamaştıracak kadar şiddetli aydınlatmalardan kaçınılmalıdır. Lam üzerinde şüpheli serum örneklerinin incelendiği her kuyucuk, kontrol örneklerinin bulunduğu kuyucuklar ile karşılaştırılarak değerlendirilmelidir. Bazı preparatların incelenmesi sırasında, kontrol lamlarına birçok kez bakma ihtiyacının doğması nedeniyle, lamların bir lam taşıyıcı üzerine belirli bir sıra ile dizilmesi okuyucuya avantaj sağlayabilmektedir.

IFA testinin uygulanması sırasında gerekli olan araç, gereç ve tampon solüsyonlar şunlardır:

a) Fluoresan mikroskop

Test sonuçlarının değerlendirilmesi ancak fluoresan mikroskop ile mümkün olabilmektedir.

Fluoresan maddeler belirli bir dalga boyundaki ışığı absorbe ederek, daha uzun dalga boyunda ışık olarak tekrar yayarlar. Ultraviyole gibi görünme sınırının dışında kalan bir ışık, fluoresan bir madde tarafından absorbe edilip, görülebilen ışık spektrumu içinde bir dalga boyunda yansıtıldığında, görülebilir hale gelir. Bu özellik fluoresan mikroskoplarda kullanılır.

Fluoresan mikroskoplarda genellikle ultraviyole (360 nm) ya da mavi ışık (400 nm) kullanılır. Işık kaynağı olarak civa buharlı lambalar veya ksenon gaz lambalarından yararlanılır.

Fluoresan mikroskoplarda, arzu edilen dalga boyundaki yansımanın görüntülenebilmesi için bazı filtreler de kullanılır. Bu filtreler ışık kaynağının önüne yerleştirilmiştir. Bu sayede objeye ulaşacak dalga boyu seçilir ve objektiften sonra kısa dalga boyunun göze ulaşması engellenir.

b) Antijen Lamları

Antijeni damlatmak için 75 mm boyunda, 25 mm eninde, 0.12 mm kalınlığında, üzerinde testin uygulanacağı alanların elmas kalemle çizilerek belirlendiği klasik lamlar kullanılabileceği gibi, ticari olarak hazırlanmış özel multi-test lamları da kullanılabilmektedir. Bu lamlar piyasada bulunan Fluoroglide (Chemplast) veya Anti-hart

spray 899 (Spraytechnik Rotebühlst 89/2, 7000 Stuttgart) gibi sprey boyalardan faydalanılarak da hazırlanabilmektedir. Bu uygulama için lamların püskürtme boya ile kaplanmadan önce, üzerlerinde testin yapılacağı alanları belirlemek gerekir. Bu amaçla lamın üzerindeki belli noktalara gliserin damlatılır ve daha sonra lamın yüzeyi sprey boya ile örtülmektedir. Boya kuruduktan sonra lamlar yıkanmakta ve böylelikle gliserin damlatılan alanlar test için boş kalmaktadır. Fluoroglide ile boyanan lamların testte kullanılmadan önce 90ºC'lik etüvde 90 dk bekletilmesi önerilmektedir.

c) Tampon solüsyonlar

Tampon solüsyonların hazırlanması, laboratuarda tamponun terkibindeki kimyasalların hassas terazide tartılarak karıştırılması ile yapılabileceği gibi yine ticari olarak hazırlanmış tabletler de bu amaçla kullanılabilmektedir. IFAT uygulaması sırasında, gerek serum sulandırılmaları ve gerek lamların yıkanması için kullanılan tampon solüsyonlardan bazılarının terkibi aşağıda verilmiştir.

I. Tampon (pH 7.2)

NaCl	42.50 g
Na_2HPO_4	10.65 g
NaH_2PO_4 (kristalize)	1.95 g
Distile su	5 lt

II. PBS tampon (pH 7.2)

NaCl	38.25 g
Na_2HPO_4	3.62 g
KH_2PO_4	1.05 g
Distile su	5 lt

III. Gliserin tampon: Gliserin tampon, testin son aşamasında preparatları kaplamak için kullanılır. Bu tampon dokuz hacim saf gliserin içine bir hacim PBS tampon (pH 7.2-7.6) karıştırılarak hazırlanmaktadır. Bu karışım ağzı kapalı şişelerde saklanabilmektedir. Ancak, her ay yenilenmesi önerilmektedir. Piyasada ticari olarak da bulunmaktadır. [Bacto Fa Mounting Fluid pH 7.2 (Difco), Fluoprep (Biomerieux)]. Asit ortam

konjugattaki fluorokrom proteinlerin yapısını bozduğundan montaj tamponunun alkali olması gerekmektedir (Özcel ve ark 1997).

d) Flouresans Konjuge (Konjugat)

Genellikle ticari olarak hazırlanmış total anti-immunglobulinler, anti-IgG veya antiIgM kullanılmaktadır. Piyasada en çok Aldrich, Behring, Biomerieux, Biotrol, Hyland, Miles, Nordic, Institut Pasteur gibi firmalar tarafından üretilen konjugeler bulunmaktadır. Konjugelerin optimal sulandırma oranları kataloglarında belirtilmiş olmasına rağmen, yeni çalışılacak bir konjugenin, teste başlamadan önce titresinin belirlenmesi önerilmektedir.

e) Evans Blue

Evans blue'nun çalışma solüsyonu hazırlanmadan önce, stok solüsyonu hazırlanmalıdır. Bunun için evans blue ana solüsyonunun Tampon (pH 7.2) ile 1/100'lük dilüsyonu yapılmakta ve kapaklı kahverengi şişelerde yaklaşık bir ay saklanabilmektedir. Çalışma sırasında Stok solüsyon Tampon (pH 7.2) ile sulandırılır. Sulandırılmış solüsyonda evans blue'nun oranı 1/10.000 olmalıdır.

f) Test için gerekli diğer malzemeler

İnkübasyon işlemlerinde yararlanılan 37ºC'lik etüv, nemli ortam için kullanılacak kapaklı küvetler, lam yıkama kapları (şale), lam taşıyıcıları, pipetler ve serum titrelerinin yapılacağı sulandırma tüpleri veya mikropleytler, testin uygulanması sırasında kullanılan diğer malzemelerdendir.

2.11. Babesiosisin Tedavisi

Babesia'lar, eritrositlerin zorunlu parazitidirler ve yüksek konsantrasyonda kolinesteraz ihtiva ederler. Etkenlerin canlılığını devam ettirebilmeleri için, etraflarında mutlaka bu enzimin bulunması gerekmektedir. *Babesia*'lara etkili olan ilaçların çoğu kolinesteraz inhibitörüdürler.

Babesiosisin tedavisinde göz önünde tutulması gereken iki önemli nokta vardır. Birincisi, *Babesia* türüne karşı ilacın etkinliği; diğeri ise, konak için ilacın toksisitesidir. *Babesia*'ya karşı kullanılan bütün ilaçlar az veya çok toksiktirler. Bu sebeple, konakta kullanılan bir ilaç için dozajın terapötik ve toksik düzeyleri arasındaki ilişki iyi bilinmelidir (Mahoney 1977, Levine 1985).

Geçmişten günümüze kadar babesiosisin tedavisinde çeşitli ilaçlar kullanılmıştır. Bunlardan Quinuronium türevleri (Acaprin, Babesan, Pirevan, Piroparv, Piroplasmin) 1ml/50 kg dozunda (Mahoney 1977, Hiepe ve Jungman 1983, Blood ve Radostits 1989), Diminazen aseturat (Babenil, Berenil) kas içi veya deri altı yolla 3.5 mg/kg dozda kullanılmıştır (Hiepe ve Jungman 1983, Blood ve Radostits 1989) Acridin Türevleri (Gonacrin, Acriflavin, Flavin, Euflavin, Tripaflavin) ise %0.5- 2.5'luk çözeltileri koyun ve keçilerde 50-150 mg dozda damar içi yolla kullanılmıştır (Mahoney 1977, Hiepe ve Jungman 1983, Mohamed ve Yagoup 1990). Ancak ilaçların birçoğunun farklı zamanlarda kullanılmaları yasaklandığı için günümüzde sadece imidocarb dipropionate kullanılmaktadır (Minjauw ve McLeod 2003, Merck 2007). Aşağıda, babesiosisin tedavisinde kullanılan ilaç gruplarından sadece Diminazen aseturat ve Imidocarb dipropionate hakkında bilgi verilmiştir.

2.11.1. Aromatik diamidinler (Diminazen aceturate)

Diminazen aceturate (Babenil, Berenil) babesiosisin tedavisinde kullanılan etkili ilaçlardan birisidir (Hiepe ve Jungman 1983, Blood ve Radostits 1989). Berenil toz, 14 katı sulandırıldıktan sonra kas içi veya deri altı yolla 3.5 mg/kg dozda kullanılmaktadır (Mohamed ve Yagoup 1990). İlaçlanan hayvanın sütü üç, eti 20 gün tüketilmemelidir (Karaer ve Nalbantoğlu 2005).

2.11.2. Imidocarb dipropionate (IMDP)

Imidocarb dipropionate babesiosise karşı hem terapötik hem de profilaktik amaçla kullanılmaktadır (Kuttler ve Johnson 1986, Kaya ve Pirinçci 2002, Zintl ve ark 2003, Vial ve Gorenflot 2006). IMDP'nin ruminantlardaki tedavi dozu 1.2 mg/kg olup, kullanıldıktan kısa bir süre sonra kandaki bütün *Babesia*'lar etkisiz hale getirilmektedir (Mahoney 1977, Hiepe ve Jungman 1983, Blood ve Radostits 1989). İlacın koruyucu dozu ise 2.4 mg/kg olup, koruyuculuk süresinin iki ay kadar olabileceği belirtilmektedir.

Imidocarb dipropionate, etkenleri doğrudan etkiler. Poliaminlerin şekillenmesi veya kullanılması ile parazit taşıyan alyuvarlara inozitolun girişini engeller. Hücre çekirdeğinin sayısı ve büyüklüğünde artış ile sitoplazmada vakuol şekillenmesine yol açar. Sığırlarda, deri altı (SC) veya kas içi (IM) yolla 1 mg/kg dozda uygulandığında tüm *Babesia* türlerine etkilidir. Sağaltım dozunun biraz üzerindeki miktarlarda verildiğinde, hastalığı tümüyle yok etmektedir (Kaya ve Pirinçci 2002).

Babesiosisin sağaltımında IMDP sığırlara 1-2 mg/kg, koyunlara 1 mg/kg, atlara 2-3.4 mg/kg ve köpeklere 3-6 mg/kg dozlarda uygulanmaktadır. Sığırlarda koruyucu olarak 2 mg/kg dozda uygulanır; bu miktar 3 mg/kg'a kadar artırılabilir. İlaç bu şekilde bir ay süreyle koruma sağlamaktadır. İlacın atlarda *B. caballi*'ye karşı iki gün süreyle 3 mg/kg, *B. equi*'ye karşı üç gün arayla beş kez 4 mg/kg; köpeklerde *B. canis*'e karşı önce 3.5 mg/kg, bir gün sonra da 7.5 mg/kg dozda uygulanması tavsiye edilmektedir

Imidocarb dipropionate, damar içi (IV) yolla kullanılmamalıdır. İlaç verilen hayvanların doku ve organlarında 5.5-6 ay süreyle kalıntılarına rastlanmaktadır. Bu sebeple, süt veren hayvanlarda ve besi hayvanlarında kullanmaktan kaçınmalı, kullanıldığında ise hayvanlar ilaç uygulamasının üzerinden 28 gün geçmeden kesilmemelidir. Bu süre 90 güne kadar da uzatılabilmektedir. İlacın karsinojenik olabileceği de belirtilmektedir (Kaya ve Pirinçci 2002, Karaer ve Nalbantoğlu 2005).

2.12. Babesiosisden Korunma ve Kontrol

Türkiye, coğrafik yapısı ve iklimi itibariyle kenelerin bol olduğu bir ülkedir ve kene kaynaklı protozoon enfesiyonları hayvanlarda yüksek mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır. Kenelerin aktif olduğu mevsimlerde özellikle sığır ve koyunlarda babesiosisden kaynaklanan ölümler ve hastalığa bağlı verim kayıpları, yıllardır görülen en önemli problemlerden biridir. Bu sebeple keneler yoluyla bulaşan hastalıklara karşı etkin koruma yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir.

Keneler zorunlu kan emici artropodlar olup, dünyanın her bölgesinde bulunmaktadırlar. Ülkemizde halk arasında; kene, sakırga, kerni gibi isimlerle bilinmektedir. *Argasidae* ve *İxodidae* ailelerine bağlı 850 kene türünün varlığından bahsedilmektedir. *Amblyomma* soyu dışındaki soylara bağlı birçok kene türü, Türkiye'de yaygın olarak bulunmaktadır (Vatansever 2008).

Ixodidae türleri, genellikle ilkbahar ve sonbahar mevsimleri arasında aktiftirler. Bunlar evcil hayvanların kulak kepçesi içinde ve dışında, boyun altında, karın, anal ve perianal bölgeler ile sırt ve kuyruk üzerinde bulunurlar. Keneler konaklarına tutunup ağız organellerini deri içine sokarlar ve burada sabitlenip doyana kadar aynı yerden kan emerler. Argasidae ailesindeki keneler çok kısa sürelerde çok miktarda kan emip doydukları halde, Ixodidae ailesindeki kenelerin doyması için birkaç gün ile birkaç hafta arasında süre gerekir (Vatansever 2008).

Kenelerle mücadele, genellikle konak hayvanların ve çevrenin düzenli aralıklarla akarisid ilaçlarla ilaçlanması esasına dayanmaktadır. Ancak akarisid kullanımı oldukça zahmetli ve masraflı olup, aynı zamanda çevre açısından da risk oluşturmaktadır (Minjauw ve McLeod 2003). Akarisidlerle kene kontrolünün sağlanması sırasında bir takım zorluklarla karşılaşılmaktadır. Bu zorlukların başlıcaları; I. Keneler yoğun biçimde tarım ve orman alanları içinde yayılmış durumdadır, bu sebeple çevreye zarar verecek düzeyde akarisid kullanımını söz konusudur. II. Kenelerin konakları üzerinde tutundukları bölgelere akarisidlerin tam temas edebilmesi için, konağın tüm vücudunun yıkanması gerekmektedir. III. Keneler konak üzerinde bulunmadıkları süre içinde, akarisid ilaçların ulaşamayacağı yerlerde saklanırlar. IV. Kenelerin üreme yeteneğinin çok yüksek olması (bir dişi kene 3000-7000 yumurta üretir) ilaçlamaların düzenli aralıklarla yapılmasını gerektirmektedir. V. Keneler yaşamları için uygun olmayan çevre şartlarında, çok uzun süre canlı kalabilirler. VI. Kenelerin konak seçiminde alternatifler çoktur. VII. Uzun süreli kullanılmaları halinde akarisidlere karşı direnç oluşabilmektedir (Vatansever 2008).

Kenelerle mücadele, hastalığın bölgedeki durumuna göre belirlenir (Minjauw ve McLeod 2003). Etken- konak- vektör üçgeninde denge bulunan ve bu yüzden klinik vakalara rastlanmayan "endemik sabit" bölgelerde hayvanlarda preimmünitenin gelişmiş olmasından dolayı yoğun kene mücadelesine gerek duyulmaz. Buna karşılık bu dengenin bulunmadığı, klinik vakaların sıklıkla görüldüğü "değişken bölgelerde" stratejik kene mücadelesi metotlarının uygulanması gerekmektedir. Bunun için öncelikle ahır ve arazi ıslah çalışmaları ile bölgedeki vektör kenelerin biyo-ekolojik özellikleri saptanmakta, elde edilen bilgiler çerçevesinde mücadele stratejileri oluşturulmaktadır (Karaer ve Nalbantoğlu 2005).

Babesiosisin yaygın olarak görüldüğü bölgelerde, Türkiye'de olduğu gibi kimyasal mücadele metotları yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu metotlar hastalığın derecesine bağlı olarak her zaman enfeksiyonları tamamen ortadan kaldıramayabilir. Endemik hastalıklara karşı korunmada en yaygın kullanılan ve en ucuz şekilde başarı sağlayan korunma metodu aşı uygulamasıdır. Bu nedenle babesiosisin sık görüldüğü ülkelerde güvenilir aşıları geliştirme çabaları devam etmektedir. Aşı ile korumanın en önemli yararı, popülasyonda bulunan duyarlı hayvanların endemik enfeksiyonlara karşı direncini artırarak, akut enfeksiyona bağlı ekonomik kayıpları azaltmasıdır. Yaygın aşılama programları sayesinde, hassas bireylerin azalması sağlanabildiği gibi, o hastalığın eradikasyonu da mümkün olabilmektedir. Babesiosise karşı korunmada kene kontrolü

büyük önem taşımasına rağmen, akarisidlerin pahalı oluşu, bazılarına karşı direnç şekillenmesi, uygulama sırasında hayvan hareketleri ile ilgili düzenlemelerin ve karantinanın tam olarak yapılamaması ve birçok işletmede akarisidlerin banyo veya püskürtme şeklinde uygulanacağı sistemlerin genellikle yetersiz olmasından dolayı, daha güvenilir kontrol metotlarının uygulanması arzu edilir. Akarisidlere olan güvenin tam olmaması dolayısıyla, korunmada etkili bir aşının gerekliliği son yıllarda daha da önem kazanmıştır (De Vos ve Bock 2000).

İlk enfeksiyondan sonra hastalığı atlatan hayvanlarda, enfeksiyona karşı bağışıklık gelişir ve bu bağışıklık perifer kanda etkenin varlığına bağlı olarak aylarca veya yıllarca devam edebilir. Bu özellik, bazı ülkelerde sığırları babesiosise karşı bağışık kılmak amacıyla kullanılmıştır. Canlı aşıların çoğu belli *Babesia* türlerinin suşlarını, özellikle de *B. bovis* ve *B. bigemina* etkenlerini içermektedir ve Avustralya, Arjantin, Güney Afrika, İsrail ve Uruguay gibi ülkelerde, sürü endüstrisine destek için devletin desteklediği üretim tesislerinde üretilmektedir. İrlanda'da enfekte gerbil kanından hazırlanan deneysel *B. divergens* aşısı da başarıyla kullanılmaktadır (Callow 1984, Callow ve ark 1997, De Waal ve Combrink 2006).

Kan protozoonlarının farklı coğrafyalarda bulunan suşlarının patojeniteleri ve antijenik yapıları arasında önemli farklılıklar bulunabilmektedir. Örneğin *Babesia bigemina* bazı ülkelerde sığırlar için apatojen bir protozoon olarak değerlendirilirken, Türkiye'de ve diğer bazı ülkelerde sığırlarda yüksek mortaliteye neden olan bir protozoondur. Dolayısıyla bir ülkede koruyucu etkinliği olan bir canlı aşının da başka bir ülkedeki hayvanlar için koruyucu etkiye sahip olmama ihtimali söz konusudur. Başka bir coğrafik suştan hazırlanan canlı aşının, bir başka ülkede kullanılması, farklı bir suşun o ülkeye girmesi anlamına da gelir (Shkap ve ark 2007). Ayrıca birçok ülkede olduğu gibi Türkiye'de de farklı coğrafik suşlardan hazırlanan canlı aşıların ülkeye girişleri Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nca yasaklanmıştır. Bu nedenle kan protozoon enfeksiyonlarına karşı korunma amacıyla hazırlanacak bir aşı suşu, aşı uygulamasının yapılacağı coğrafik suşlardan hazırlanmalıdır.

Hastalığın immün mekanizmaları birçok ayrıntılarına kadar anlaşılmış olmasına rağmen, hala tam koruyucu ve güvenilir bir aşı mevcut değildir. Güney Afrika, İsrail ve Avustralya'da *Babesia bovis* ve *B. bigemina*'nın attenüe suşlarından ibaret olan canlı aşılar rutin olarak ve deneysel amaçlarla kullanılmaktadır (Bock ve ark 2004). Türkiye'de ise kan

protozoon enfeksiyonları içerisinde, sadece tropikal theileriosise karşı *Theileria annulata*'nın şizont aşısı üretilmektedir. Sığır ve koyun babesiosisine karşı denenmiş her hangi bir aşı çalışmasına rastlanmamıştır.

Aşı üretimi için gerekli şartlar, uygun bir kültivasyon metodunun uygulanması ile sağlanmaktadır. Parazitlerin herhangi bir gelişme formunun, canlı bir hayvanda veya laboratuar ortamında yaşama ve üreme yeteneğinin devam ettirilmesine kültivasyon denir. Kültivasyon, *in vitro* ve *in vivo* olmak üzere iki şekilde yapılır. *İn vivo* kültivasyonda, enfekte suşun, dalağı çıkarılmış hayvanlarda seri olarak pasajlarının yapılması neticesinde, attenüe suş elde edilmekte ve bu suş canlı aşı üretiminde kullanılmaktadır. Attenüe suşun, laboratuar ortamında elde edilmesi ise *in vitro* kültivasyon teknikleri ile mümkün olmaktadır (Pipano 1995, Shkap ve Pipano 2000, De Waal ve Combrink 2006). *İn vitro* kültivasyonla kanda bulunan bazı kontaminantlar elimine edilebilmektedir (Shkap ve Pipano 2000), ancak kültürde üretimin maliyeti nispeten yüksektir ve suşun kültür ortamında uzun süre devam ettirilmesi ile antijenik yapıda bozulmalar olabilmektedir (Edelhofer ve ark 1998). Ayrıca laboratuarların çoğunda büyük hacimlerde üretim yapılamamaktadır. Bu sebeple aşı suşunun çoğaltılması için, enfeksiyöz ajanlar yönünden temiz olan donör hayvanların kullanılması en uygun yoldur. İrradyasyon ile de attenüasyon gerçekleştirilebilir (Rojas ve ark 2006), ancak veriler değişkenlik arzetmektedir.

Babesiosise karşı hazılanan aşılar; attenüe canlı aşılar, inaktif (ölü) aşılar, subunit (saflaştırılmış antijen) aşılar, rekombinant aşılar ve DNA aşıları olmak üzere beş grup altında incelenebilir. Avusturya'da *B. divergens* ile enfekte sığır kanından, ölü bir aşı hazırlanmış, ancak oluşan immünitenin seviyesi ve süresi ile ilgili yeterli bilgi verilmemiştir (De Vos ve Bock 2000). *İn vitro* kültivasyon ortamında üretilen antijen moleküllerinin kullanıldığı deneysel aşılar da geliştirilmiş, ancak aşının çelınç enfeksiyonlara karşı koruma düzeyi ve bağışıklık süresi hakkında ayrıntılara değinilmemiştir (De Vos ve Bock 2000, Bock ve ark 2004). Bunlardan attenüe canlı aşıların ölü aşılara göre daha uzun süre koruyucu olduğu bilinmektedir. Ancak attenüe canlı aşılar, kullanımdan sonra bazı hayvanlarda klinik enfeksiyonların şekillenmesine sebep olabilir. Etkenin canlı veya inaktif formda uygulanması, organizma için bazı sorunlara neden olduğundan, etkenin uygun bağışık cevabın gelişmesini sağlayacak alt birimlerinin kullanıldığı subunit aşılar üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Etkenin immünojenik bölgesinin rekombinant DNA yöntemleri ile hazırlanarak aşılamalarda kullanılması esasına dayanan rekombinant aşılar üzerinde de çalışılmaktadır. Bu yöntemle

yapılan genetik değişiklikler, daha güçlü bağışıklığa neden olabilmektedir. DNA aşılarında, dokulara antijen genleri taşıyan DNA vektörleri yerleştirilir ve bu şekilde hazırlanmış hücrelerde üretilen antijen ile bağışıklığın sağlanması amaçlanır. DNA aşılarının uygulama ve üretim kolaylığı vardır ve özellikle genetik karakteri birbirine yakın olan, ancak farklı niteliklere sahip başka etkenden kaynaklanan enfeksiyonlarda başarıyla kullanılabilecek yeni nesil aşı sistemi olarak tanımlanmaktadır. Ancak babesiosise karşı rutin kullanıma yönelik subunit, rekombinant veya DNA aşıları henüz üretilmemiştir (De Vos ve Bock 2000, Bock ve ark 2004).

Canlı aşılar, sıvısal ve hücresel bağışıklık sistemlerini uzun süre uyararak daha kalıcı bir bağışıklık sağlarlar. Sığır babesiosisinde aşının sağladığı koruyucu bağışıklık, genellikle 3-4 hafta içinde gelişir ve dört yıl kadar devam eder (Pipano 1995, Callow ve ark 1997, Bock ve ark 2004). Canlı aşılarda kullanılan suş, patojen suşun seri pasajlar neticesinde elde edilen apatojen bir mutantıdır ve pasajlardan dolayı bağışıklık oluşturma özelliği kaybolmamaktadır. Attenüe suş *in vitro* veya *in vivo* olarak üretilir, standardize edilir ve etkinlik/güvenlik kontrolleri yapıldıktan sonra aşı olarak kullanılmaya hazır hale getirilir.

Canlı babesiosis aşılarının üretimi hakkında verilen bilgilerin çoğu, sığırların *B. bovis* ve *B. bigemina* enfeksiyonları ile ilgilidir. *Babesia* türlerinin attenüasyonunda çeşitli yöntemler belirtilmiş olup, virulansın azaltılmasında kullanılan en güvenilir metot, patojen suşun dalağı çıkarılmış konak hayvanlarda seri olarak pasajlanmasıdır (Callow ve ark 1997, Pipano 1997, Benavides ve ark 2000, De Vos ve Bock 2000, Shkap ve Pipano 2000, Bock ve ark 2004). Bu şekilde yapılan attenüasyonun en büyük dezavantajı, başka patojenlerle kontamine olma riski taşımasıdır. Bu riski ortadan kaldırmak için, suşlar ve aşı suşunun üretildiği donörler, PZR tekniği ve serolojik testlerden yararlanılarak kontaminasyon olup olup olmadığı yönünde testlere tabi tutulur (Pipano 1995, De Vos ve Bock 2000, Bock ve ark 2004, De Waal ve Combrink 2006). Sığırların *Babesia* türlerinde tam attenüasyon genellikle 8-20 pasajdan sonra elde edilir (Vidotto ve ark 1998, Bock ve ark 2004).

Attenüe suştan aşı hazırlanırken aşı suşları, testlerin güvenliği için -196 ^{o}C'de azot tanklarında uzun yıllar saklanabilir ve gelecekte aşı üretiminde kullanılırlar. *Babesia bovis* ve *B. bigemina* aşıları, nakil şartlarına, sıvı azot veya kuru buz gereçlerinin varlığına ve talep durumuna göre dondurulmuş veya soğutulmuş formlarda hazırlanabilmektedir. Ancak her partinin üretim sonrası kontrollerinin daha iyi yapılabilmesi ve uzun yıllar canlı olarak

muhafaza edilebilmelerinden dolayı, genellikle dondurulmuş aşı üretimi tercih edilmektedir. Soğuk aşının raf ömrü 4 ^{o}C'de 6-7 gün iken, dondurulmuş aşı yıllarca bekletildikten sonra etkin bir biçimde kullanılmaktadır (Pipano 1995, De Waal ve Combrink 2006). Attenüe suş sıvı azotta muhafaza edilirken, genellikle kryoprezervatif olarak Dimetil sülfoksit (DMSO), gliserol veya polivinilprolidin kullanılır. Bu koruyucuların, stabilat eritildikten sonra hayvanlara enjekte edilmesi halinde vücuda zarar vermediği bildirilmiştir (Pipano 1995, Callow ve ark 1997, Bock ve ark 2004). Kryoprezervatif olarak DMSO'nun kullanıldığı metodun ayrıntıları şöyledir: Enfekte kan toplanır, 4 ^{o}C'de soğutulur, sonra eşit hacimde olacak şekilde yavaşça soğuk kryoprotektant (PBS içinde 4M DMSO) ilave edilir (oluşan karışımdaki DMSO'nun son yoğunluğu 2 M olmalıdır). Karışım soğuk buz banyosu içinde 5 ml hacimli azota dayanıklı tüplere aktarılır, bu tüpler azot tankının üst kısmındaki gaz azot seviyesinde bekletilerek mümkün olduğunca çabuk dondurulur ve daha sonra sıvı azot içine bırakılırlar. *Babesia* türleri sıvı azot içerisinde 20 yıla kadar canlılıklarını kaybetmezler (Bock ve ark 2004).

Aşının hazırlanması sırasında uygulanan işlemler kısaca şöyledir: Sıvı azottan çıkarılan attenüe suşun 5-10 ml'si (Bu miktar parazitemi oranına göre belirlenir), içerisinde 40 ^{o}C su bulunan kapta çabucak eritilerek buz kabına kaldırılır ve mümkün olduğu kadar çabuk (Koruyucu olarak DMSO kullanılmışsa 30 dk içerisinde) dalağı çıkarılmış uygun bir hayvana damar içi yolla enjekte edilir. Aşı için uygun parazitemiye ulaşıldığında [(1 X 10^{8} iRBC (enfekte eritrosit) /ml kan, vena jugularisden hazırlanan frotide yaklaşık %2-15 oranında parazitemi)], donör hayvanın tüm kanı, antikoagulant olarak heparin (5 IU heparin/ml kan) kullanılarak jugular kanül ile toplanır. Parazitli kan, laboratuarda 37 ^{o}C'de eşit volümde 3M gliserol (gliserol, 5 mM glikoz ihtiva eden PBS içinde hazırlanır) ile karıştırılır (karışımdaki gliserolün son yoğunluğu 1.5 M olmalıdır) ve 30 dk bekletildikten sonra azota dayanıklı beş ml'lik tüplere bölünerek azot tankının gaz fazında bir süre bekletilir, dondurulur ve sıvı azota bırakılır. Kryoprotektant olarak gliserol yerine DMSO kullanıldığında, işlemler attenüe suşun muhafaza edilme şeklinde olduğu gibi uygulanır. Gliserollü dondurulmuş aşı, kullanım sırasında sulandırılacaksa, sulandırıcı izo-ozmotik olmalı ve PBS 1.5 M gliserol ve 5 mM glikoz içermelidir. Benzer şekilde DMSO kullanılan aşı sulandırılacağında da sulandırıcı izo-ozmotik olmalı ve PBS içinde 4M DMSO bulunmalıdır. Aşılar hayvanlara genellikle derialtı yolla uygulanır ve uygulanan aşı hacminin 2 ml'yi geçmemesine dikkat edilir. Aşı, kullanımdan önce sıvı azottan çıkarılarak

40 ^{o}C su banyosunda 5 dk bekletilir ve sonra buz kabına alınarak uygulamaya geçilir (Pipano 1995, Brizuela ve ark 1998, Bock ve ark 2004).

Aşı üretimi için tam attenüe olmuş suşun devamlı *in vitro* kültürü yapılabilmekte ve aşı üretimi devam ettiği sürece, daha ileri pasajlara ulaşılmaktadır. Kültivasyona ara verdikten sonra yeniden başlamak için, sıvı azotta muhafaza edilmiş düşük attenüe pasajlardan elde edilen suşlar (tohum hücreleri de denilebilir) kullanılır. Bu sebeple tam attenüe suş oluşana kadar, gerçekleştirilen her pasajda elde edilen suşlar ileride çok değerli olacağından, sıvı azotta muhafaza edilir. Aşı üretiminde yüksek pasajlara ulaşıldığında veya kültürde oluşabilecek bir bozulma durumunda, stok edilmiş tohum hücreleri çıkarılır ve aşı üretimine devam edilir. Attenüe suşun ileri pasajlarında tekrar virulens kazanma gibi bir riski bulunmamaktadır. Bu nedenle aşı üretiminde sürekli kültivasyon yapılabilmekte ve çok yüksek pasajlara kadar kültür sürdürülebilmektedir. Bu sayede sürekli ve aksatılmadan yeterli miktarda aşı üretimi yapılabilmektedir. Ancak bazı dönemlerde etkinlik testleri de yapılmalıdır. Etkinlik testi için aşı suşu, hassas hayvanlara inoküle edilir ve belli bir süre sonra enfekte kenelerin bu hayvanlardan kan emmeleri sağlanarak veya doğrudan virulent özellikteki enfekte kan vererek enfeksiyon oluşup oluşmadığına bakılır. Eğer, enfeksiyon şekillenmiyorsa aşı suşunun etkili olduğuna karar verilir. (Brizuela ve ark 1998, Vidotto ve ark 1998, Benavides ve ark 2000, Shkap ve Pipano 2000).

Aşı çalışmalarının en önemli hususlarından biri, yerel saha suşlarının izolasyonu ve saflaştırılmasıdır. Bu amaçla, diğer paraziter (*Anaplasma, Eperythrozoon, Theileria, Trypanosoma*), viral ve bakteriyel ajanlar yönünden temiz olan *B. bovis, B. bigemina* ve *B. divergens* suşları, enfekte kenelerin splenektomi yapılmış buzağılar üzerinde beslenmesi sağlanarak kolaylıkla izole edilebilmektedir. İzolasyon, enfekte sığırlardan splenektomi yapılmış buzağılara kan inokule edilerek de yapılabilir.

Babesia bovis ve *B. bigemina* aşıları gerek dondurulmuş gerekse soğutulmuş olarak üretilebilmekte, taşınabilmekte ve sıvı azot veya kuru buz üzerinde tutulabilmektedir. Üretimden sonra her küme eksiksiz olarak kontrol edilmek şartıyla, dondurulmuş aşı hazırlanması tercih edilmektedir. Ancak, bunun üretimi oldukça pahalı, transferi de soğutulmuş aşıdan daha zordur. Enfekte kandan hazırlanan aşılarda kontaminasyon riski olduğundan üretim sonrası kontroller çok önemlidir (De Vos ve Jorgensen 1992).

Buening ve ark (1986), *B. bovis*'i *in vitro* kültivasyonla klonlamış ve daha sonra orijinal kültürlerle karşılaştırmışlardır. Bu klonlanmış materyal, bir yaşındaki dört düveye

inokule edilmiştir. Klonlanmamış materyal de aynı şekilde diğer dört düveye inokule edilmiştir. Klonlanmış *Babesia* verilen düvelerde küçük hematolojik değişikliklerden başka herhangi bir klinik belirti görülmezken, klonlanmamış *Babesia*'nın inokule edildiği grupta bir hayvan ölmüştür. Yine bu gruptaki buzağılarda ateş yükselmiş ve hematokrit diğer gruptakilere oranla daha fazla düşmüştür. Bu durum endemik alanlarda, klonlanmış organizmanın sığır babesiosisine karşı koruyucu amaçla kullanılabileceğini göstermektedir (Buening ve ark 1986). In vitro kültivasyon metodu, aşı hazırlamada kullanılacak parazitin üretilmesi için uygun bir ortam olmasının yanı sıra bir çok immunolojik çalışmanın da teknik kısmını oluşturmaktadır. Örneğin; immunolojik testlerde kullanılmak üzere organizmalara karşı monoklonal ve poliklonal antikor hazırlamak için gerekli antijenlerin üretiminde, monoklonal antikorların gelişmesini sağlayabilen özel proteinlerin tespitinde, parazitlere karşı şekillenen sıvısal ve hücresel savunma sistemlerinin niteliğini tayin etmede, parazitlerin suş farklılıklarının belirlenmesinde, hangi suşun moleküler epidemiyolojide faydalı olacağının tespit edilmesinde *in vitro* kültivasyon metodundan yararlanılmaktadır.

Babesia bovis ve *B. bigemina*'nın attenüe Avustralya suşu Afrika, Güney Amerika ve Güney-doğu Asya ülkelerinde sığırların babesiosise karşı aşılanmasında etkili bir şekilde kullanılmaktadır (De Vos ve Jorgensen 1992).

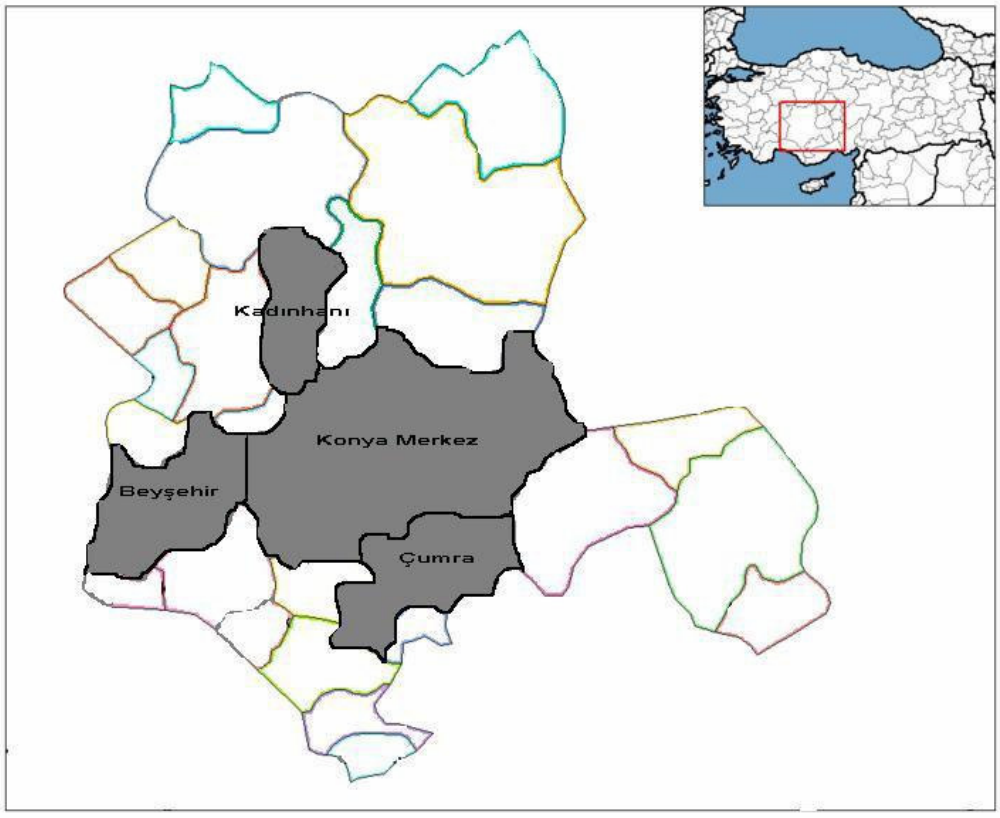
3. MATERYAL ve METOT

3.1. Çalışma Merkezlerinin Seçimi ve Örnek Toplama

Konya, coğrafik olarak 36º 41' ve 39º 16' kuzey enlemleri ile 31º 14' ve 34º 26' doğu boylamları arasında yer almaktadır. Ortalama yükseltisi 1016 m'dir. Kuzey'den Ankara; batıdan Isparta, Afyonkarahisar ve Eskişehir; güneyden İçel, Karaman ve Antalya; doğudan Niğde ve Aksaray illeri ile çevrilidir.

Bu çalışmada; Konya yöresini temsilen materyal almak için yörenin merkezinde, kuzeyinde, batısında ve güneyinde bulunan ilçeler tercih edilmiş ve Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Kadınhanı olmak üzere dört ilçedeki 74 farklı odaktan, farklı yaş gruplarına ait rastgele seçilmiş 770 adet sığır muayene edilmiştir. Çalışma merkezlerinin Konya ili içerisindeki yerleşimi Resim 3.1'de gösterilmektedir.

Resim 3.1. Çalışma merkezlerinin Konya ili içerisindeki yerleşimi



Bu çalışma Nisan 2006- Mart 2007 tarihleri arasında yapılmıştır. Bu süre içerisinde Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Kadınhanı ilçelerine 12 ay boyunca her ay gidilerek, her defasında farklı yaş gruplarına (0-3 ay, 3-6 ay, 6-9 ay, 9-12 ay, 12-24 ay, 24-36 ay ve >36 ay) ait, değişen sayılarda (15-20) sığırların her birinin kulak ucundan ikişer adet sürme

kan frotileri yapılmıştır. Ayrıca serum elde etmek için hayvanların her birinin Vena jugularis'lerinden, tekniğine uygun olarak yaklaşık sekizer cc kan alınmıştır. İncelemeye tabi tutulan bütün sığırlar kene varlığı yönünden de muayene edilmiş, mevcut keneler, içinde %70'lik alkol bulunan şişelere toplanmıştır. Her numune üzerine protokol numarası, materyalin alındığı yer ve tarih yazılmış, bütün materyal laboratuara getirilerek gerekli incelemeler yapılmıştır.

3.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler

- Santrifüj (Hettich, Universal 320R, Zenrifugen, Germany)
- Fluoresan Mikroskop (Olympus BX 51)
- Çalkalayıcı (IKA yellowline OS 5 basic, USA)
- Vortex (IKA MS 1 minishaker, USA)
- Manyetik karıştırıcı (IKA.YAG RH, Janker & Kungel)
- Etüv (Hera cell 150, Heraeus, Thermo Electron Corporation)
- Derin dondurucu (-20^{0}C, Arçelik)
- Buzdolabı (+4^{0}C, Arçelik)
- Otomatik pipet (5-50 µl , 50-200µl, 100-1000µl , Socorex)
- Otomatik pipet (0.5-10µl, Gamidor)

3.3. Kimyasal Maddeler ve Solüsyonlar

- Giemsa solüsyonu (Merck)
- Metanol (Merck)
- Distile su
- Fosfat Buffer Salin (PBS): Fuller Labs., Fullerton, CA USA (Cat. No: BIG-120)
- Immersiyon yağı (Merck)

- Fluoresan mikroskobik gliserin: Fuller Labs., Fullerton, CA USA (Cat. No: BIG-120)

- Konjugat: Fuller Laboratories, Fullerton, CA USA

- *Babesia bigemina* antijen lamları: Fuller Laboratories, Fullerton, CA USA

3.4. Laboratuar Çalışmaları

Steril tüplerdeki kan numuneleri bir gece buzdolabında bekletildikten sonra çeperi steril bir tel ile çizilerek 4000 devirde 10 dk. santrifüj edilmiş ve serum ayrılmıştır. Bunlar 1.5 ml'lik ependorf tüplere paylaştırılmış, IFAT'nde kullanılıncaya kadar -20ºC'de muhafaza edilmiştir.

Sığırların kulak uçlarından yapılan sürme frotiler metil alkolle 5 dk. tespit edilmiş, %10'luk Giemsa solüsyonuyla 30 dk. boyanmıştır. Hazırlanan frotiler mikroskopta, 100X objektifte incelenmiştir.

Toplanan 770 serum IFAT'ne tabi tutularak *B. bigemina*'ya karşı antikor varlığı yönünden araştırılmıştır.

Hayvanların üzerinden toplanan keneler, içerisinde %70'lik alkol bulunan şişelere alınmış ve stereo mikroskop altında incelenerek tür teşhisleri yapılmıştır (Keirans 1992, Güler ve ark 1993, Karaer ve ark 1997, Aydın 2000).

3.4.1. Testte kullanılan reagentlerin temini

Indirekt fluoresan antikor testi için gerekli *B. bigemina* antijen lamları, sığır konjugatı (FITC-conjugated anti-bovine IgG), pozitif ve negatif kontrol serumları, gliserol ve PBS tabletleri hazır olarak Fuller laboratories'den temin edilmiştir.

3.4.2. Konjugat

Indirekt fluoresan antikor testinde kullanılan konjugatın en iyi fluoresan veren sulandırma basamağı Schachbrett-titrasyon testi ile 1/80 olarak tespit edilmiştir.

3.4.3. IFA testinde kullanılan kontrol maddeleri

- PBS kontrol

- Negatif kontrol serumu
- Pozitif kontrol serumu

3.5. IFAT'nin Uygulanışı

- İşlenecek olan serumlar bir gün önceden derin dondurucudan (-20 ºC) çıkarılmış ve buzdolabına (+4 ºC) konulmuştur.
- Antijen preparatları teste başlamadan 30 dk. önce buzdolabından (+4 ºC) çıkarılmış ve oda ısısında bekletilmiştir.
- İşlenecek serumların her biri usulüne uygun şekilde mikrotiter pleytlerde PBS ile 1/80 oranında sulandırılmıştır.
- Antijen preparatları numaralandırılarak rutubetli ortama konulmuş (Rutubetli ortam, kapaklı bir küvet içine süzgeç kâğıdı serilerek üzerine distile su dökülüp hazırlanmıştır), sonra sulandırılmış serumlardan antijen preparatlarındaki kuyucuklara 10'ar µl damlatılmıştır.
- Rutubetli ortam küvetinin kapağı kapatılıp 37ºC etüvde yarım saat inkubasyona bırakılmıştır.
- Bu sürenin sonunda preparatlar, PBS ile beşer dakika süreyle bir defa elde, iki defa manyetik karıştırıcıda yıkanmıştır.
- Preparatlar yeniden küvet içine dizilmiş, her kuyucuğa hazır konjugattan birer damla damlatılmış ve preparatlar 37ºC etüvde tekrar yarım saat bekletilmişlerdir.
- Preparatlar PBS ile, beşer dakika süreyle bir defa elde, iki defa manyetik karıştırıcıda tekrar yıkanmıştır.
- Daha sonra her bir preparatın üzerine 2-3 damla gliserinli buffer damlatılarak üzerlerine lamel kapatılmıştır.
- Preparatlar karanlık odada, fluoresan mikroskobun 40'lık neofluar objektifi ile incelenmişlerdir.

IFA testi değerlendirmeleri aşağıda belirtildiği gibi yapılmıştır.

+++ : Mükemmel pozitiflik

++ : İyi pozitiflik

+ : Pozitiflik

- : Negatif (fluoresan vermeyen)

Bu testi değerlendirirken kullanılan (+) değerler, fluoresan mikroskopta parlamanın fazla ve net oluşuna göre tespit edilmişlerdir.

3.6. Endemik Yapının Belirlenmesi

Endemik yapının belirlenmesi için her yaş grubuna ait sığırların inokulasyon oranları hesaplanmıştır. İnokulasyon oranı, Mahoney ve Ross (1972) tarafından h= (-1)[ln (1-*I*)] / t şeklinde formüle edilmiştir. Bu formülde yer alan simgelerin anlamları şu şekildedir:

h: inokulasyon oranı

I: enfekte hayvan oranı (%)

t: hayvanların yaşlarının aritmetik ortalaması (gün olarak)

İnokulasyon oranının hesaplanması sonucunda h değerinin 0.005'den büyük çıkması bölgenin endemik yapısının sabit olduğunu, 0.0005 ile 0.005 arasında çıkması ise endemik yapının değişken olduğunu göstermektedir.

3.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada incelenen grupların yaşlarının aritmetik ortalamaları t testi kullanılarak hesaplanmıştır.

Testlerin sonuçları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemliliği Ki kare testlerinden, Mc Nemar testiyle incelenmiştir. Bu istatistiksel testler için minitab programından yararlanılmıştır.

4. BULGULAR

Bu araştırmada dört farklı merkezde, 74 farklı odakta bulunan 770 sığır *B. bigemina* yönünden hem mikroskobik hem de serolojik yöntemlerle muayene edilmiştir.

Mikroskobik muayene sonuçlarına göre, Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Kadınhanı ilçelerinde, sığırlarda *B. bigemina*'nın aylara göre dağılımı Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Mikroskobik bulgulara göre Konya yöresindeki sığırlarda *B. bigemina*'nın aylara göre dağılımı

Yıl	Aylar	Konya Merkez			Çumra			Beyşehir			Kadınhanı			Toplam		
		a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)
2006	Nisan	13	1	7.69	20	0	0	16	0	0	20	0	0	69	1	1.45
	Mayıs	15	0	0	19	0	0	10	0	0	18	0	0	62	0	0
	Haziran	25	0	0	14	0	0	14	0	0	17	0	0	70	0	0
	Temmuz	15	0	0	19	0	0	20	0	0	17	0	0	71	0	0
	Ağustos	14	0	0	19	11	57.9	15	0	0	19	0	0	67	11	16.4
	Eylül	16	3	18.8	15	0	0	15	0	0	16	0	0	62	3	4.84
	Ekim	11	0	0	25	0	0	17	0	0	12	0	0	65	0	0
	Kasım	10	0	0	21	0	0	15	0	0	12	0	0	58	0	0
	Aralık	15	0	0	16	0	0	14	0	0	16	0	0	61	0	0
2007	Ocak	15	0	0	14	0	0	16	0	0	19	0	0	64	0	0
	Şubat	15	0	0	15	0	0	15	0	0	16	0	0	61	0	0
	Mart	15	0	0	15	0	0	15	0	0	15	0	0	60	0	0
	Toplam	179	4	2.23	212	11	5.19	182	0	0	197	0	0	770	15	1.95

a: Muayene edilen hayvan sayısı, b: Enfekte hayvan sayısı, c: Enfeksiyon oranı

Bu tablodan da anlaşılacağı gibi, Çumra'da Ağustos ayında mikroskobik olarak muayene edilen 19 sığırın 11'inde (%57.9) *B. bigemina*'ya rastlanmış olup, diğer aylarda incelenen hayvanların hiç birinde parazit tespit edilememiştir. Konya Merkez ilçede mikroskobik olarak muayene edilen sığırlarda *B. bigemina* Eylül ve Nisan aylarında görülmüştür. Eylül ayında 16 sığırın 3'ü (%18.75), Nisan ayında da 13 sığırın birinde (%7.69) *B. bigemina* tespit edilmiş, diğer aylarda incelenen frotilerin hiç birinde *B. bigemina*'ya rastlanmamıştır. Beyşehir ve Kadınhanı ilçelerinde muayene edilen sığırların frotilerinde ise, çalışma süresince hiç *B. bigemina* tespit edilememiştir. Araştırma süresince bütün ilçelerden toplanan 770 sığıra ait kan frotilerinin 15'inde (%1.95) mikroskobik

olarak *B. bigemina* saptanmıştır. Araştırma boyunca Konya Merkez ilçede muayene edilen toplam 179 sığırın dördünde (%2.23), Çumra'da ise 212 sığırın 11'inde (%5.19) *B. bigemina*'ya rastlanmıştır.

Tablo 4.1'de görüldüğü gibi enfeksiyonun aylara göre genel dağılımı dikkate alındığında, *B. bigemina* enfeksiyonunun oranı Ağustos ayında en yüksek düzeyde (%17.5) gözlenmiş, bunu Eylül (%4.55) ve Nisan (%1.45) ayları takip etmiştir. Diğer aylarda incelenen sığırların hiç birisinin kan frotisinde *B. bigemina* tespit edilememiştir.

Indirekt fluoresan antikor testi ile yapılan incelemelere göre, sığırlarda *B. bigemina*'nın Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Kadınhanı ilçelerinde aylara göre dağılımı Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2'de belirtildiği gibi, Konya Merkez'de en yüksek seropozitiflik (%100) Mayıs ayında muayene edilen sığırlarda tespit edilirken en düşük seropozitiflik ise Şubat (%6.66) ayında saptanmıştır. Aralık ayında *B. bigemina* antikorlarına rastlanmamıştır.

Çumra'da en yüksek oran (%95) Nisan ayında tespit edilmiş en düşük orana (%6.66) ise Mart ayında rastlanmıştır.

Beyşehir'de en yüksek seropozitiflik oranı (%80) Şubat ayında gözlenmiş, Ekim (%5.89) ayında *B. bigemina* antikorlarına daha az rastlanmıştır.

Kadınhanı ilçesinde muayene edilen sığırlarda en yüksek seropozitiflik (%100) Nisan ve Eylül aylarında tespit edilmiştir. Ağustos (%15.79) ayında diğer aylara oranla *B. bigemina* antikorlarına daha az rastlanmıştır.

Tablo 4.2'den de anlaşılacağı gibi, Konya Merkez'de Mayıs ayında, Kadınhanı ilçesinde de Nisan ve Eylül aylarında incelenen sığırların tamamında *B. bigemina* antikorlarına rastlanmış olup, Aralık ayında ise Konya Merkez'de muayene edilen sığırların tamamı seronegatif olarak tespit edilmiştir.

Bu tabloda belirtildiği gibi Konya Merkez ve civar ilçelerinden toplanan toplam 770 baş sığırın serumu IFAT'ne tabi tutulmuş ve bunların 331'i (%42.99) *B. bigemina*'ya spesifik antikorlar yönünden pozitif olarak tespit edilmiştir.

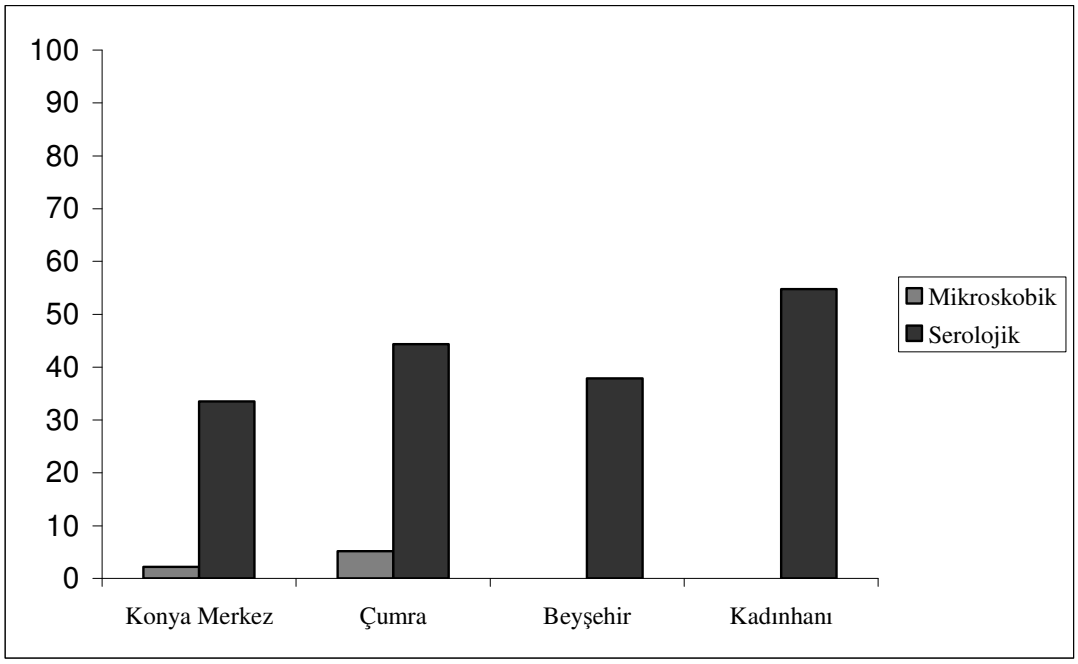
Tablo 4.2. Konya yöresi sığırlarında *B. bigemina*'nın aylara göre dağılımı

	Aylar	Konya Merkez			Çumra			Beyşehir			Kadınhanı			Toplam		
		a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)	a	b	c (%)
2006	Nisan	13	1	7.69	20	19	95	16	10	62.50	20	20	100	69	50	72.46
	Mayıs	15	15	100	19	14	73.68	10	1	10	18	14	77.78	62	44	70.97
	Haziran	25	13	52	14	1	7.14	14	2	14.29	17	9	52.94	70	25	35.71
	Temmuz	15	6	40	19	4	21.05	20	13	65	17	10	58.82	71	33	46.48
	Ağustos	14	2	14.29	19	4	21.05	15	9	60	19	3	15.79	67	18	26.87
	Eylül	16	8	50	15	10	66.67	15	2	13.33	16	16	100	62	36	58.06
	Ekim	11	2	18.18	25	14	56	17	1	5.89	12	6	50	65	23	35.38
	Kasım	10	1	10	21	6	28.57	15	10	66.67	12	6	50	58	23	39.66
	Aralık	15	0	0	16	3	18.75	14	2	14.29	16	3	18,75	61	8	13.11
2007	Ocak	15	9	60	14	8	57.14	16	6	37.50	19	7	36.84	64	30	46.88
	Şubat	15	1	6.66	15	10	66.67	15	12	80	16	7	43.75	61	30	49.18
	Mart	15	2	13.33	15	1	6.66	15	1	6.66	15	7	46.67	60	11	18.33
	Toplam	179	60	33.52	212	94	44.34	182	69	37.91	197	108	54.82	770	331	42.99

a: Muayene edilen hayvan sayısı, b: Seropozitif hayvan sayısı, c: Seropozitiflik oranı

Bu çalışmada, Konya yöresinde IFAT ve mikroskobik muayene metotları ile sığırlarda *Babesia bigemina*'nın çalışma merkezlerine göre dağılımı Grafik 4.1'de gösterilmiştir.

Grafik 4.1. Konya yöresi sığırlarında serolojik ve mikroskobik muayene sonuçlarına göre *Babesia bigemina*'nın dağılımı



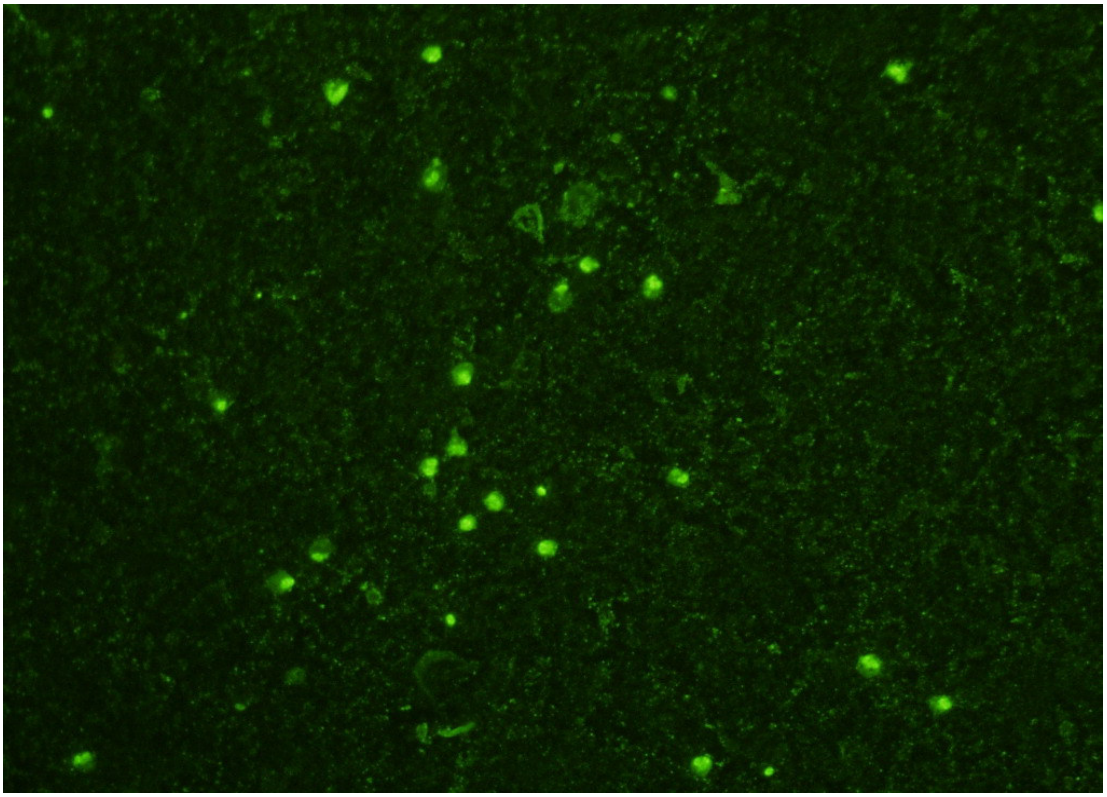
Buna göre muayene edilen 770 sığırdan IFAT ile 331 (%42.99)'inin, sürme frotilerin mikroskobik muayenesi ile 15 (%1.95)'inin pozitif olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada mikroskobik ve serolojik muayene metotları ile elde edilen sonuçlar Tablo 4.3'de karşılaştırılmıştır.

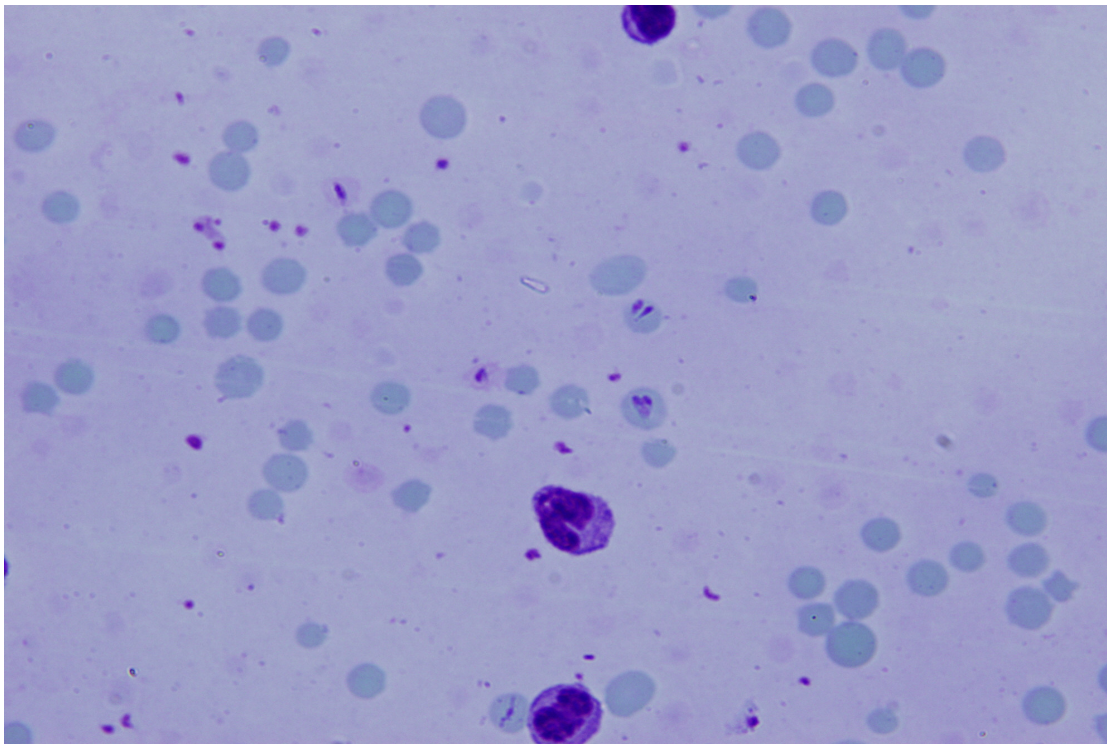
Tablo 4.3. Mikroskobik muayene ve IFAT sonuçlarının karşılaştırılması

	IFAT			
Mikroskobik muayene		+	-	Toplam
	+	5	10	15
	-	326	429	755
	Toplam	331	439	770

Testlerin sonuçları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemliliği Mc Nemar testiyle incelenmiştir. Bu istatiksel testler için minitab programından yararlanılmıştır. Analizler sonucunda her iki testin sonuçları arasındaki fark önemli ($p<0.001$) bulunmuştur (Tablo 4.3).



Resim 4.1. Seroloji pozitif bir sığırda *B. bigemina*'ya karşı şekillenen antikorların IFAT ile görünümü (40X)



Resim 4.2. Babesiosisli bir sığırın kan frotisinde *Babesia bigemina*'nın piroplasm formları (100X)

Seropozitif bir sığırda *B. bigemina*'ya karşı şekillenen antikorların IFAT ile görünümü (40X) resim 4.1'de, akut babesiosisli bir sığırın kan frotisinde *Babesia bigemina*'nın piroplasm formları (100X) ise resim 4.2'de görülmektedir.

Bu çalışmada muayene edilen hayvanlar endemik yapının belirlenebilmesi amacıyla 0-3, 3-6, 6-9, 9-12, 12-24, 24-36, >36 ay olmak üzere yedi gruba ayrılmıştır. Seropozitiflik durumunun yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 4.4'de gösterilmektedir.

Tablo 4.4. Muayene edilen sığırlarda pozitiflik durumunun yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş grubu (ay)	**İncelenen hayvan sayısı (n)**	**Pozitif hayvan sayısı**	
		Mikroskobik muayene	Seroloji n (%)
0-3 ay	76	0	4 (5.26)
3-6 ay	35	0	5 (14.29)
6-9 ay	82	0	29 (35.37)
9-12 ay	123	0	92 (74.79)
12 -24 ay	159	0	70 (44.03)
24-36 ay	103	6	41 (39.81)
>36 ay	192	9	90 (46.88)
Toplam	770	15	331 (42.99)

Indirekt fluoresan antikor testi ile yapılan muayene sonuçlarına göre 0-3 aylık grupta bulunan 76 sığırın 4'ünde (%5.26) en düşük oranda, 9-12 aylık grupta ise 123 sığırın 92'sinde (%74.79) ise en yüksek oranda *B. bigemina* antikorları tespit edilmiştir. Buna karşılık mikroskobik olarak muayene edilen sığırlardan 0-3 ay, 3-6 ay, 6-9 ay, 9-12 ay ile 12-24 aylık gruplarda *B. bigemina* tespit edilemezken 24-36 aylık grupta 103 sığırın 6'sında (%5.83) ve 36 aylıktan büyük hayvanların bulunduğu grupta 192 sığırın 9'unda (%4.95) *B. bigemina* tespit edilmiştir.

Bölgenin endemik yapısının sabit mi, değişken mi olduğunu belirlemek için her yaş grubuna ait sığırların inokulasyon oranları hesaplanmıştır (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Farklı yaş gruplarına ait sığırlarda *B. bigemina*'nın inokulasyon oranları

Gruplar (ay)	**İncelenen hayvan sayısı**	**Yaş aritmetik ortalama (t)**	**% pozitiflik *(I)***	**İnokulasyon oranı (h)**
0-3	76	51.91±3.34	5.26	0.0009
3-6	35	157.71±4.14	14.29	0.0009
6-9	82	240.55±3.71	35.37	0.002
9-12	123	339.02±2.59	74.79	0.004
12-24	159	656.01±8.23	44.03	0.0008
24-36	103	1069.62±4.14	39.81	0.0004
>36	192	2008.13±53.39	46.88	0.0003

Tablo 4.5'de de belirtildiği gibi tüm gruplarda h değeri 0.005' den küçük çıkmış ve bundan dolayı araştırma yapılan bölgelerde *B. bigemina*'nın endemik yapısının değişken olduğuna karar verilmiştir.

Araştırma kapsamındaki sığırlardan toplanan kene türleri ve kenelerin aylara göre dağılımları Tablo 4.6.'da gösterilmektedir.

Tablo 4.6. Konya yöresi sığırlarından toplanan kene türleri ve aylara göre dağılımları

	Aylar																													
Kene Türleri	**2006**																		**2007**						**Toplam**			
	Nisan		Mayıs		Haziran		Temmuz		Ağustos		Eylül		Ekim		Kasım		Aralık		Ocak		Şubat		Mart					
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	Nimf	Toplam
Hyalomma anatolicum anatolicum	-	-	3	-	5	5	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	7	-	17
Hyalomma anatolicum excavatum	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	4	-	7
Hyalomma marginatum marginatum	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4	-	5
Hyalomma spp. (nimf)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		1	1
Ixodes ricinus	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2		-	2
Haemaphysalis parva	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	5
Haemaphysalis spp. (nimf)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		9	9
Dermacentor marginatus	1	1	-	-	-	-	-	-	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	2	-	6
Rhipicephalus bursa	-	-	-	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	3
Rhipicephalus sanguineus	-	-	-	-	6	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	8	-	14
Rhipicephalus turanicus	-	-	1	3	11	7	-	-	4	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	12	-	28
Ornithodorus lahorensis	-	-	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	1	-	4
Toplam	5	2	7	4	24	23	-	-	7	4	3	7	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51	40	10	101

-: bulunamadı

Kene enfestasyonu bulunan sığırlarda aylara göre farklı kene türlerinin varlığı dikkat çekmiştir. İlkbahar aylarında *H. anatolicum anatolicum, H. anatolicum excavatum, I. ricinus, D. marginatus, R. turanicus* ve *O. lahorensis*, yaz aylarında *H. anatolicum anatolicum, H. marginatum marginatum, R. bursa, R. sanguineus, R.turanicus* ve *D. marginatus,* sonbahar aylarında *H. anatolicum anatolicum, H. anatolicum excavatum, H. marginatum marginatum* ve *Hae. parva,* kış aylarında ise *Haemaphysalis sp.* türü keneler tespit edilmiştir. En çok görülen kene türlerinin ise, *R. turanicus ve H. anatolicum anatolicum* olduğu anlaşılmıştır.

Konya Merkez'de 43 (%42.57), Çumra'da 11 (%10.89), Beyşehir'de 16 (%15.84) ve Kadınhanı ilçesinde ise 31 (%30.69) adet kene tespit edilmiştir. Toplanan kene türlerinin ilçelere göre dağılımı şu şekildedir; Konya merkez'de; *H. a. anatolicum*, *H. a. excavatum*, *H. m. marginatum*, *Hyalomma* sp. (nimf), *I. ricinus, D. marginatus, Rh. bursa*, *Rh. turanicus, O. lahorensis*, Çumra'da; *Rh. bursa, Rh. turanicus, D. marginatus*, Beyşehir'de; *Rh. turanicus*, *Hae. parva*, *Haemaphysalis* spp. (nimf), Kadınhanı'nda; *H. a. anatolicum*, *Rh. turanicus*, *Rh. sanguineus* türlerine rastlanmıştır.

Konya yöresinde karasal iklim hakimdir. İç Anadolu Bölgesi'nin güneyinde yer alan bu yörede yazları sıcak ve kurak, kışları karlı ve soğuk geçmektedir. Nem oranı da sahil bölgelere kıyasla daha düşüktür. Bu çalışmada materyal alınan 4 farklı merkezin klimatolojik değerleri arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıkların, enfeksiyon oranları ile ilişkisinin olup olmadığını değerlendirmek amacıyla çalışma merkezlerine ait meteorolojik veriler temin edilmiş ve Tablo 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Nisan 2006 ve Mart 2007 tarihleri arasında Konya Merkez'de tespit edilen ortalama ısı, ortalama yağış ve ortalama nisbi nem değerleri

	Aylar	**Isı (ºC)**	**Yağış (Kg/m²)**	**Nem (%)**
2006	Nisan	12.2	53.4	61.6
	Mayıs	16.2	17.9	59.2
	Haziran	22.0	9.9	43.4
	Temmuz	23.2	0.3	45.2
	Ağustos	26.8	0.0	39.9
	Eylül	18.2	20.0	55.0
	Ekim	13.4	66.1	68.8
	Kasım	4.6	51.9	74.8
	Aralık	-0.2	0.1	71.8
2007	Ocak	0.3	20.9	77.6
	Şubat	0.3	19.3	82.8
	Mart	6.6	15.4	64.6
Ortalama		11.97	22.93	57.93

Tablo 4.8. Nisan 2006 ve Mart 2007 tarihleri arasında Beyşehir ilçesinde tespit edilen, ortalama ısı, ortalama yağış ve ortalama nisbi nem değerleri

	Aylar	**Isı (ºC)**	**Yağış (Kg/m²)**	**Nem (%)**
2006	Nisan	10.7	40.2	60.8
	Mayıs	13.8	29.4	61.3
	Haziran	19.4	11.0	53.8
	Temmuz	21.8	0.7	49.7
	Ağustos	24.9	10.0	46.4
	Eylül	17.6	26.8	55.9
	Ekim	12.4	156.4	72.7
	Kasım	3.6	71.8	77.9
	Aralık	0.0	1.1	72.0
2007	Ocak	-3.2	70.6	77.5
	Şubat	0.2	31.4	75.2
	Mart	5.2	48.7	65.9
Ortalama		10.1	41.51	64.09

Tablo 4.9. Nisan 2006 ve Mart 2007 tarihleri arasında Çumra ilçesinde tespit edilen, ortalama ısı, ortalama yağış ve ortalama nisbi nem değerleri

	Aylar	**Isı (ºC)**	**Yağış (Kg/m²)**	**Nem (%)**
2006	Nisan	12.2	25.8	52.5
	Mayıs	16.5	28.5	49.7
	Haziran	21.9	15.2	42.7
	Temmuz	22.7	6.2	40.3
	Ağustos	25.4	13.4	38.3
	Eylül	17.6	24.6	49.1
	Ekim	12.9	36.7	65.1
	Kasım	4.6	24.3	66.0
	Aralık	-0.8	0.2	61.5
2007	Ocak	0.1	32.7	62.6
	Şubat	-1.0	37.2	71.9
	Mart	6.4	25.1	54.5
Ortalama		11.54	22.49	54.52

Tablo 4.10. Nisan 2006 ve Mart 2007 tarihleri arasında Kadınhanı (Ilgın) ilçesinde tespit edilen, ortalama ısı, ortalama yağış ve ortalama nisbi nem değerleri

	Aylar	**Isı (ºC)**	**Yağış (Kg/m²)**	**Nem (%)**
2006	Nisan	11.5	60.4	60
	Mayıs	14.8	59.9	62.9
	Haziran	20	26.5	54.8
	Temmuz	22	9	50.7
	Ağustos	25.7	-	46.3
	Eylül	17.3	29.6	57.7
	Ekim	12.8	116.7	72.3
	Kasım	4.4	40	74.8
	Aralık	-0.1	1.1	71.0
2007	Ocak	-0.7	76.3	71.7
	Şubat	0.5	48.1	71.4
	Mart	6	44.9	63.3
Ortalama		11.18	42.71	63.08

Tablo 4.10'da belirtilen meteorolojik veriler Konya'nın Ilgın ilçesine aittir. Kadınhanı ilçesine ait herhangi bir meteorolojik veriye ulaşılamaması nedeniyle, ilçeye 26 km uzaklıkta bulunan ve meteorolojik özellikleri hemen hemen aynı olan Ilgın ilçesinin meteorolojik verileri kullanılmıştır.

Meteorolojik verilerle ilgili tablolardan da anlaşılacağı gibi dört farklı merkezin aylık ortalama ısıları arasında belirgin bir farklılık göze çarpmazken, ortalama yağış miktarları ve nem oranları arasında farklılıkların olduğu, bu farklılıklara bağlı olarak toplanan kene miktarının da değişebileceği dikkat çekmiştir. Konya Merkez'de 43 (%42.57), Çumra'da 11 (%10.89), Beyşehir'de 16 (%15.84) ve Kadınhanı ilçesinde ise 31 (%30.69) adet kene tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Sığırlarda babesiosis, tropik ve subtropik bölgelerde kenelerle nakledilen ve ekonomik kayıplara yol açan önemli bir hastalıktır (Kuttler 1988). Dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi Türkiye'de de sığır yetiştiriciliğini tehdit etmektedir (Mimioğlu 1955, Göksu 1959, Özcan 1961, Göksu 1968, Tüzer 1981, Dinçer ve ark 1991, İnci 1992, Açıcı 1995).

Dünyada babesiosis, mera kenelerinin bulunduğu her yerde, bilhassa tropikal ve subtropikal iklim kuşağında bulunan ülkelerde yaygın olarak görülmektedir (Mc Cosker 1981, Kuttler 1988). *B. bigemina* özellikle Asya, Afrika, Orta ve Güney Amerika, Güney Avrupa ve Avustralya'da ekonomik açıdan oldukça önemlidir (De Vos ve ark 2000). Kenelerle bulaşan paraziter hastalıkların, özellikle de theileriosis, babesiosis ve anaplasmosisin Asya ülkelerinde oldukça yaygın olduğu, hastalıkların kontrolü için şu anda yapılan metotların kene mücadelesi, kemoterapi ve kısmen aşı uygulamalarından ibaret olduğu, subunit aşı üretimi gerçekleşene kadar da attenüe canlı aşılarla kontrolün sağlanması gerektiği bildirilmektedir (Ahmed ve ark 2002, Ahmed ve ark 2007). Dünyanın değişik bölgelerinde yapılmış serolojik çalışmalardan elde edilen verilere göre, *B. bigemina*'nın seroprevalansı Afrika'nın doğu, güney ve batı ülkelerinde %40-%93 (Akınboade ve Dipeolu 1984, Woodford ve ark 1990, Tonnesen 2002, Rubaire-Akiiki ve ark 2004, Sahibi ve ark 1998), Orta ve Güney Amerika'nın çeşitli bölgelerinde (Montenegro-James 1992, Guglielmone 1995, Applewhaite ve ark 1981, Weiland ve Reiter 1988, Barros ve ark 2005, Teglas ve ark 2005) %46-%90, Avrupa'nın güneyinde yer alan bazı ülkelerde (Papadopoulos ve ark 1996, Almeria ve ark 2001) %6-%15.2 arasında seyretmektedir. Avustralya'da da çiftlik hayvanı yetiştiriciliğinin gelişmesini engelleyen en önemli hastalıklardan birisi de babesiosisdir (Callow 1984). Bu ülkede hastalığın 1800'lü yıllardan beri görüldüğü, o yıllarda babesiosisden dolayı hayvan varlığının %50 oranında gerilediği, o zamandan beri etkili kontrol metotları uygulanarak hastalığın etkisinin azaltılmaya çalışıldığı, ancak hala yıllık ekonomik kaybın 28 milyon dolar olduğu ifade edilmektedir (Anonim 2006a).

Kan protozoonlarının teşhisi uzun yıllar kan frotilerinin mikroskobik bakısı ve hastalığa özel klinik bulguların görülmesi ile yapılmıştır (Mahoney ve Saal 1961, Mimioğlu ve ark 1971, Soulsby 1987). Türkiye'de babesiosisin varlığı ile ilgili çalışmalar 1955 yılında başlamıştır. Mimioğlu (1955) Karadeniz bölgesinde, Samsun, Ordu, Giresun ve Bolu illerinde muayene ettiği 70 sığırın 5'inde (%7.1) mikroskobik olarak *B.*

bigemina'yı tespit etmiştir. İç Anadolu Bölgesi'nde, sığırlarda ilk babesiosis araştırması Ankara civarında yapılmış olup, mikroskobik bakısı yapılan 996 sığırın altısında (%0.6) *Babesia bigemina*, ikisinde (%0.2) *B. bovis* tespit edilmiştir (Göksu 1959). Aynı şekilde Özcan (1961) 194 sığır üzerinde yaptığı araştırmada iki hayvanın (%1.03) *B. bigemina* iki tanesinin ise *B. bovis* ile enfekte olduğunu saptamıştır. Göksu (1970) Orta Anadolu, Karadeniz ve Marmara bölgelerinde yapmış olduğu araştırmalarda *B. bovis*'e rastladığını ve Ordu ilinde *B. bigemina* ve *B. bovis* türlerinin yayılış oranlarının %3.75 olduğunu bildirmiştir. Mimioğlu ve ark (1971) *B. major*'ün Marmara bölgesinde yaygın olduğunu ve Karadeniz bölgesinde *B. divergens*'in varlığını ilk kez bildirmişlerdir. Tüzer (1981) ise Marmara bölgesinde İstanbul çevresinde yaptığı çalışmada *B. bigemina*'yı %11.6, *B. bovis*'i %34.8 oranında saptamıştır. Elazığ yöresinde yapılan bir çalışmada, muayene edilen 69 sığırın üçünde (%4.34) *B. bigemina* saptanmıştır (Dumanlı ve Özer 1987). Eren (1992)'in yaptığı çalışmada ise Ankara ve civarında 191 sığıra ait perifer kan frotilerinin mikroskobik bakısında, dört sığırda (%2) *Babesia* sp. saptanmış, aynı hayvanların IFA testi ile yapılan serolojik incelemelerinde babesiosisin pozitiflik oranı %51.3 olarak tespit edilmiştir. İnci (1992), Ankara'nın Çubuk ilçesinden seçilen 22 sığırın kan frotilerinin mikroskobik muayenesinde dört sığırda *B. bigemina*, iki sığırda ise *B. bovis* tespit etmiştir. Doğu Anadolu bölgesindeki bazı illerde yapılan çalışmaya göre, mikroskobik bakısı yapılan 1000 sığırın 10'unda (%1) *B. bovis*, altısında (%0.6) *B. bigemina* tespit edilmiştir (Özer ve ark 1993). Diğer bir çalışmada Açıcı (1995), Samsun yöresinde 149 sığıra ait perifer kan frotisinin mikroskobik bakısında, sığırların 48'inde (%32.21) *Babesia bigemina*, 44'ünde (%29.53) *B. bovis* ve 20'sinde ise (%7.38) miks enfeksiyon (17'si *B. bigemina*+*A. marginale*; üçü *B. bigemina*+*B. bovis*) teşhis etmiştir. Sevinç ve ark (2001), Konya merkez köylerinde yaptıkları araştırmada inceledikleri 157 sığırın 18'inde (%11.46) *Babesia* sp.'ye rastlamışlardır. Aktaş ve ark (2001)'nın yaptığı bir çalışmada, Elazığ yöresinde 285 sığırın kan frotileri incelenmiş ve sığırların dördünde (%1.4), Malatya yöresinde incelenen 292 sığırın ikisinde (%0.6) *Babesia spp*.'ye rastlanmış, Tunceli yöresinde ise etkene rastlanmamış olup, kan frotilerinin mikroskobik muayenesinde pozitif olarak tespit edilen altı sığırın *B. bigemina*'ya karşı antikor taşıdığı tespit edilmiştir. İnci ve ark (2002), Kayseri yöresinde muayene ettikleri 191 sığırın 13'ünde (%6.8) *B. bigemina*'yı tespit etmiş, *B. bovis* ve *B. divergens*'e rastlamamışlardır. Niğde yöresinde yapılan bir çalışmada ise en az bir kene mevsimi geçirmiş olan, rastgele seçilmiş 100 sığırın kan frotilerinin mikroskobik bakısında iki hayvanda (%2) *Babesia* sp. tespit edilmiştir (Karatepe ve ark 2003). İça (2004) 300 sığır üzerinde yaptığı çalışmada, kan frotilerinin

mikroskobik muayenesi ile sekiz hayvanda (%2.7) *B. bigemina* saptamıştır. Özetle belirtmek gerekirse Türkiye'de 1955'de sığırlarda ilk babesiosis çalışmasından sonra (Mimioğlu 1955) değişik bölgelerde mikroskobik muayene metodu uygulanarak hastalığın prevalansı hakkında veriler toplanmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre sığırlarda *B. bigemina* enfeksiyonunun %0.6 ile %32.21 arasında değişen oranlarda görüldüğü belirlenmiştir (Mimioğlu 1955, Göksu 1959, Özcan 1961, Göksu 1968, Hoffman ve ark 1971, Tüzer 1981, Dumanlı ve Özer 1987, İnci 1992, Özer ve ark 1993, Açıcı 1995, İnci ve ark 2002).

Bu çalışmada Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Kadınhanı ilçelerinde toplam 74 odaktaki sığırlardan hazırlanan 770 kan frotisinin mikroskobik muayenesinde 15 hayvanda (%1.95) *B. bigemina* tespit edilmiştir. Konya Merkez ilçede muayene edilen 179 sığırın 4'ünde (%2.23), Çumra'da muayene edilen 212 sığırın 11'inde (%5.19) *B. bigemina*'ya rastlanmış, diğer ilçelerde ise etken teşhis edilememiştir. Mikroskobik muayene ile *B. bigemina* tespit edilen sığırların 2 yaşından büyük oldukları gözlenmiştir. Hastalığın aylara göre genel dağılımı dikkate alındığında, *B. bigemina* Ağustos ayında en yüksek düzeyde (%17.46) gözlenirken, bunu Eylül (%4.55) ve Nisan (%1.45) ayları takip etmiştir. Diğer aylarda incelenen kan frotilerinin hiç birisinde *B. bigemina* tespit edilememiştir. Kan frotilerinin mikroskobik muayeneleri sonucu elde edilen bulguların Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarda elde edilen bulgularla genel olarak uyumlu olduğu gözlenmiştir. Hayvan sahiplerinden alınan bilgilere göre hastalığa özel klinik belirtilerin daha önce görüldüğü ve hayvanlarını hemen tedavi ettirdikleri belirtilmiş ve bu gibi nedenlerden dolayı akut enfeksiyona rastlama oranı düşük çıkmıştır.

Babesiosisde hastalığı atlatan hayvanlar, uzun süre vücutlarında az miktarda parazit taşıyarak vektör keneler için enfeksiyon kaynağı olmakta ve hastalık için portörlük yapmaktadırlar. Bu durumdaki taşıyıcı hayvanlarda mikroskobik muayene ile etkenlerin teşhisi güçleşmekte ve yanılgılara sebep olmaktadır (Ceci ve ark 1999, Almeria ve ark 2001). Diğer taraftan parazitlerin bizzat kendisinin değil de, ona karşı oluşan antikorların tespiti esasına dayanan IFAT, ELISA ve CFT gibi serolojik yöntemler ve bunlardan özellikle IFAT, babesiosisin teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Todorovic ve Carson 1981). IFAT, özgüllüğünün yüksek olması ve hastalığın her döneminde kullanılabilmesi nedeniyle seroepidemiyolojik çalışmalarda en çok tercih edileni olup, *Babesia* türlerinin identifikasyonunda da güvenle kullanılmaktadır (Todorovic 1975, Johnston ve ark 1977, Kuttler ve ark 1977, Bidwell ve ark 1978). IFAT ile tespit edilen

antikorlar, enfeksiyonun başlamasından yedi gün gibi kısa bir süre sonra serumda tespit edilebilmekte, 21 gün sonra titresi en yüksek seviyeye çıkmakta ve 18-24 ay kadar da kanda tespit edilebilir seviyede kalmaktadır (Todorovic 1975, Madruga ve ark 2000). Johnston ve ark (1973), sığırlarda *B. argentina*'nın teşhisinde IFAT'ı uygulamışlar ve güvenilirlik derecesini %95, yanlış pozitiflik ve yanlış negatiflik oranlarını da sırasıyla (0.02- 0.05) ve (0.001- 0.01) olarak bildirmişlerdir. Ross ve Lohr (1968), sığırlarda *B. bigemina* enfeksiyonunun serolojik teşhisinde IFAT'ın %100 güvenle kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Türkiye'de, IFAT ilk olarak Özkoç (1961) tarafından *B. ovis*'in seroprevalansının belirlenmesinde kullanılmıştır. Sığırlarda serolojik yöntemlerle *B. bigemina*, *B. divergens* ve *B. bovis*'in teşhisi ise ilk kez Çakmak (1987) tarafından yapılmıştır. Çakmak (1987), Ankara'nın Beytepe köyünde 185 sığıra ait 494 serumda IFAT'ni uygulayarak sığırların %4.8'inde *B. bigemina*'ya, %9.7'sinde *B. bovis* antikorları tespit etmiş, *B. divergens*'e karşı ise hiçbir sığırda antikor saptanamadığını bildirmiştir. Çakmak (1987)'tan sonra Türkiye'nin değişik bölgelerinde sığırlarda babesiosisin serodiagnozu üzerine birçok araştırma yapılmış olup, genellikle seroprevalans değerleri ortaya konmuştur. Yapılan serolojik çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre; *B. bigemina*'nın seroprevalansının çalışma merkezlerine göre %0.93 (Kaya ve ark 2006) ile %100 (İnci 1992) arasında değiştiği tespit edilirken, genel olarak %23 ile %80 arasında bir dağılım gösterdiği ifade edilmiştir (Sayın ve ark 1989, Dinçer ve ark 1991, Eren 1992, Çakmak ve Öz 1993, Sayın ve ark 1996, Sevinç ve ark 2001, Aktaş ve ark 2001, İnci ve ark 2002, Karatepe ve ark 2003, İça ve ark 2005). Konya yöresinde sığırlarda klinik babesiosis olguları ile genellikle ilkbaharda, kenelerin aktivite dönemlerinin başlamasına paralel olarak, her yıl karşılaşılmaktadır. Bazı yıllarda kış sezonunda da akut hastalık tabloları görülebilmektedir (Sevinç ve ark 2005). Babesiosis uzun yıllardan beri Türkiye'de görülen ve patognomik semptomları dolayısıyla hem hayvan sahipleri hem de serbest veteriner hekimler tarafından klinik olarak teşhis ve tedavi edilebilen hastalıklardan birisidir. Anti-babesial ilaçlar, hastalık mevsiminde hem hayvan barınaklarında hem de çobanların çantalarında bile bulunmakta, kan işeme olayı görülür görülmez de uygulanmaktadır. Bu nedenle akut enfeksiyonların gerçek yaygınlığı hakkında tahmin yürütmek oldukça güçtür. Bu durumda hastalığın epidemiyolojisinin belirlenmesinde serolojik testler büyük önem taşımaktadır. Serolojik testlerle, mevcut veya daha önceden geçirilmiş enfeksiyonlar belirlenerek, bir bölgede bulunan hayvanların ne oranda hastalık etkenleri ile karşılaştıkları tespit edilebilmektedir. Konya yöresinde sığırlarda *B. bigemina*'nın seroprevalansı ile ilgili olarak bir araştırma yapılmış (Sevinç ve ark 2001), ancak o araştırmada hastalığın

epidemiyolojisi ve endemik yapısı üzerine odaklanılmamış olup, sadece bir yaş üzerinde rastgele seçilmiş 277 sığırda hastalığın seroprevalans değeri ortaya konulmuştur. Bu araştırmanın yapılmasının amaçlarından biri Konya yöresindeki sığırlarda *B. bigemina*'nın endemik yapısını belirlemek olmuştur. Endemik yapının belirlenmesi, bu hastalığın kontrolünde büyük önem taşıyan aşı uygulamalarının gerekliliği konusuna ışık tutacaktır. Bu araştırmada İFAT ile yapılan incelemelere göre, sığırlarda *B. bigemina* enfeksiyonunun Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Kadınhanı ilçelerindeki seroprevalans değerleri sırasıyla %33.52, %44.34, %37.91 ve %54.82 olarak tespit edilmiş ve hastalığın Konya yöresindeki genel seroprevalansı %42.99 olarak bulunmuştur (Tablo 4.2). Bu çalışmada, Konya yöresinde IFAT ve mikroskobik muayene metotları ile sığırlarda *Babesia bigemina*'nın çalışma merkezlerine göre dağılımı Tablo 4.3'de gösterilmiş olup, IFAT ile tespit edilen enfeksiyon oranı (%42.99) ile sürme frotilerin mikroskobik muayenesi ile tespit edilen enfeksiyon oranı (%1.95) arasında istatistiki farkın önemli olduğu ($p<0.001$) gözlenmiştir. Serolojik ve mikroskobik metotlar arasındaki farkın önemi, Türkiye'de ve dünyanın değişik bölgelerinde yapılan çalışmalarda da vurgulanmakta ve epidemiyolojik çalışmalarda serolojik testlerin büyük önem taşıdığı ifade edilmektedir.

Bir sığır popülasyonu içinde yer alan taşıyıcı hayvanların oranı, hastalığın endemik yapısının sabit veya değişken olduğunu belirleyen bir faktördür. Endemik sabitlik, sürü immünitesini tanımlayan epidemiyolojik bir kavramdır. Sürü immünitesi genellikle serolojik testlerle ölçülür ve "inokulasyon oranı" olarak tanımlanan terimle ifade edilir. Türkiye'de babesiosisin endemik bir hastalık olduğu bilinmektedir. Her yıl kenelerin aktif olduğu dönemlerde bu hastalıkla karşılaşılmaktadır. Türkiye'de sığır babesiosisinin serolojik metotlarla teşhisi ve hastalığın yaygınlığı yönünde yapılan serolojik çalışmalar, sığırlarda *Babesia* seropozitifliğinin değişik oranlarda görüldüğünü ortaya koymaktadır. Ancak, farklı yaş gruplarına ait sığırlarda endemik durumun sabit mi yoksa değişken mi olduğunu belirleyen ve aşı uygulamalarının gerekli olup olmadığı konusuna ışık tutan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, *Babesia bigemina*'ya özgü antikorlar yönünden değişik yaş gruplarına ait 770 sığır incelenmiş ve her grubun inokulasyon oranları hesaplanarak, hastalığın endemik yapısı belirlenmiştir (Tablo 4.5). Yapılan hesaplamalar neticesinde, grupların hepsinde de inokulasyon oranlarının 0.0002 ve 0.005 arasında yer aldığı tespit edilmiş ve araştırma yapılan bölgelerde *B. bigemina*'nın endemik yapısının değişken olduğuna karar verilmiştir. Ancak %74.79 seropozitiflik oranına sahip olan 9-12 aylık yaş grubundaki sığırlarda, inokulasyon oranı, endemik yapının sabit olabilmesi için

gerekli minimum inokulasyon oranına yakın (0.004) olarak bulunmuştur. Bu durumda 9-12 aylık yaş grubundaki sığırlarda endemik sabitliğin oluştuğu ve hayvanların enfekte kenelerle enfeste olması durumunda, akut hastalık tabloları ile karşılaşma ihtimalinin düşük olduğu belirtilebilir. İlk üç grupta yer alan hayvanların endemik yapısı değişken olarak tespit edilmiş olmasına rağmen, bu hayvanlarda maternal antikorlar ve non-spesifik yaş direnci dolayısıyla klinik enfeksiyonların görülme ihtimali zayıftır. Bunun aksine bir yaşın üzerindeki sığırlar için aynı şeyi söylemek mümkün değildir. Bir yaş üzeri üç grubun hepsinde de seropozitiflik oranları %75'in altında olup, endemik yapının sabit olmasını sağlayacak inokulasyon oranlarına da sahip olmadıkları tespit edilmiştir. Bu durumda bir yaşından büyük sığırlarda, klinik enfeksiyonun şekillenme ihtimali yüksektir. Bu riski elimine etmek için etkili kontrol metotlarının uygulanması gerekmektedir. Kenelerle nakledilen hastalıklara karşı uygulanan en etkili korunma yolu aşı uygulamasıdır. Bu nedenle Konya yöresinde sığırlar, 9-12 aylık oldukları dönem içerisinde aşılanırlarsa, daha sonraki dönemlerinde babesiosise karşı korunabilirler.

Sığırlarda babesiosisin gelişmesini etkileyen en önemli faktörlerden birisi hayvanın yaşıdır. Babesiosis vakaları genellikle hayvanların yaşlarının ilerlemesine paralel olarak artış göstermektedir. Buzağılar, yaşamlarının ilk altı aylık döneminde, hem kolostrum yoluyla kazandıkları pasif bağışıklık, hem de sahip oldukları non-spesifik doğal direnç sayesinde genellikle akut enfeksiyonlara karşı dirençlidirler. Bu dönem içerisinde eğer buzağılar etkene maruz kalırlarsa vücutlarındaki antikor titrelerinde bir yükseliş olmakta ve bu durum reenfeksiyonlara karşı direnci daha da artırmaktadır. Ancak bu dönem boyunca enfekte kene invazyonuna hiç rastlanmaz ise, buzağılarda altıncı aydan dokuzuncu aya kadar yaş direnci giderek azalmakta ve dokuzuncu aydan sonra hayvanlar, hastalık açısından risk taşımaktadırlar (Mahoney 1967, Sevinç 1996, Swai ve ark 2005, Geleta 2005). Bu çalışmada muayene edilen hayvanlar 0-3, 3-6, 6-9, 9-12, 12-24, 24-36 aylık ve 36 aydan büyük olmak üzere 7 gruba ayrılmış ve IFAT ile *B. bigemina*'ya spesifik antikorlar yönünden muayene edilmiştir. Yaş gruplarına göre *B. bigemina*'nın seroprevalans değerleri sırasıyla %5.26, %14.29, %35.37, %74.79, %44.03, %39.81 ve %46.88 olarak tespit edilmiştir. Seropozitiflik oranının, 9-12 aylık döneme kadar yaşın ilerlemesine paralel olarak artış gösterdiği, bu dönemden sonra da tedrici olarak azaldığı görülmektedir. Burada en yüksek seropozitiflik oranı 9-12 aylık hayvan grubunda gözlenmiştir. Elde edilen sonuç Konya yöresinde babesiosisin epidemiyolojisinin belirlenmesinde önemli bir durum olarak dikkat çekmektedir. Bu durumun, hayvanların

yaşlarının ilerlemesine paralel olarak enfekte kene invazyonuna maruz kalmaları dolayısıyla şekillenmiş olması muhtemeldir. Bu çalışmada incelenen bir yaş üzeri sığırlarda yaşın ilerlemesine paralel olarak seropozitiflik oranının azalması, antikor titrelerinin zamanla düşmüş olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Antikor titrelerindeki azalma ise muhtemelen mevsim değişikliklerine ve kene mücadele metotlarının uygulanmasına bağlı olarak ortamdaki kene popülasyonunun azalması ve dolayısıyla hayvanların kene enfestasyonlarına daha az maruz kalması ile ilgili olabilir. Bu durumda elde edilen veriler dikkate alındığında, 12. aydan sonra hayvanlarda akut enfeksiyon ihtimalinin artabileceği düşünülebilir. Nitekim, bu araştırmada da mikroskobik olarak frotilerinde parazitemi tespit edilen klinik babesiosisli 6 sığırın 24-36 aylık, 9 sığırın ise 36 aylıktan büyük oldukları gözlenmiştir.

Bu hastalığa karşı korunmada kene kontrolü büyük önem taşımaktadır. Ancak akarisidlerin pahalı oluşu, bazılarına karşı direnç şekillenmesi, uygulama sırasında sığır hareketleri ile ilgili düzenlemelerin ve karantinanın tam olarak yapılamaması ve birçok işletmede akarisidlerin banyo veya püskürtme şeklinde uygulanacağı sistemlerin genellikle yetersiz olması gibi sebeplerden dolayı güvenilir bir kontrol metodu değildir. Babesiosisin endemik olduğu bölgelerde hayvanları kan paraziti enfeksiyonlarına karşı korumak için, uygulanması gereken en güvenilir metot aşı uygulamasıdır. Aşı ile korumanın en önemli yararı, popülasyonda bulunan duyarlı hayvanların enfeksiyona karşı direncini artırarak, akut enfeksiyona bağlı ekonomik kayıpları azaltmasıdır.

Türkiyenin değişik yörelerinde Ixodidae ailesine bağlı kenelerin yayılışı ile ilgili araştırmalar yapılmış (Kurtpınar 1954, Göksu 1959, Merdivenci 1969, Hoffman 1971, Sayın ve Dumanlı 1982, Sayın ve Karaer 1987, İnci 1992, Eren, 1992, İnci ve ark 2002, Yukarı ve Umur 2002, Çiçek 2004, Mamak ve ark 2006, İça ve ark 2007) ve *B. bigemina*'nın vektörü olan *Boophilus annulatus*'un Orta Anadolu'da mevcut olduğu bildirilmiştir. Bu araştırıcıların bir kısmı da (Hoffmann ve ark 1971, Sayın ve Karaer 1987) *B. bovis* ve *B. divergens*'in vektörü olan *Ixodes ricinus*'u Ankara yöresinde tespit etmişlerdir. Ankara yöresinde (Mimioğlu 1954, Merdivenci 1969, Hoffman 1971, Sayın ve Karaer 1987) Ixodidae ailesine bağlı *Hyalomma, Boophilus, Rhipicephalus, Dermacentor, Heamaphysalis* ve *Ixodes* cinslerine ait birçok kene türü saptanmıştır. Sayın ve Karaer (1987) Ankara'da *B. bigemina* ve *B. bovis*'in vektörlüğünü yapan *B. annulatus*'un yayılışını %1, *B. major*'un vektörlüğünü yapan *Hae. punctata*'nın yayılışını %2, *B. divergens*'in taşıyıcılığını yapan *I. ricinus*'un yayılışını ise %3 olarak

bildirmişlerdir. Eren (1992), yine aynı bölgede yaptığı araştırmada sığırlar üzerinde *Hyalomma, Boophilus, Rhipicephalus* ve *Heamaphysalis* cinslerine bağlı 84 kene toplamıştır. İki sığırda, *B. annulatus* türünü tespit etmiştir. İnci (1992), Ankara'nın Çubuk ilçesinde yaptığı çalışmada, *H. detritum*, *Hae. parva* ve *D. marginatus*'u tespit etmiş, Babesia türlerinin esas vektörlerine rastlamamıştır. Burdur yöresinde 756 sığır üzerinde yapılan bir çalışmada (Yukarı ve Umur 2002) sığırlar üzerinden 863 adet kene toplanmış, toplanan kenelerin *D. marginatus*, *Hae. parva*, *R. turanicus*, *B. annulatus* ve *H. marginatum* türleri olduğu saptanmıştır. Araştırma yapılan 12 aylık sürede sığırlarda enfestasyon oranı % 21.8 olarak belirlenmiştir. İnci ve ark (2002), Kayseri yöresinde yaptıkları bir çalışmada ise *R. turanicus*, *R. bursa*, *H. marginatum*, *H. a. excavatum*, *D. niveus*, *B. annulatus* ve *O. lahorensis* kenelerinin erginleri ile *Hyalomma sp.* ve *B. annulatus* nimflerini teşhis etmişlerdir. Çiçek (2004), Ankara yöresinde Eylül 1996 ve Ağustos 1998 tarihleri arasında yaptığı çalışmada *Haemaphysalis* türlerinin epizootiyolojisini incelemek amacıyla 1059 sığır muayene etmiş, sığırların %19.16'sının *Haemaphysalis* türleri ile enfeste olduğunu tespit etmiştir. Sivas'ın Zara yöresinde yapılan çalışmada (Mamak ve ark 2006) ise, bir yıl süresince muayene edilen 240 sığırın 71'inin (%29,6) kenelerle enfeste olduğu, mevcut kenelerin de *Hae. parva* (%33,8), *D. marginatus* (%2,8), *B. annulatus* (%21,1), *Hae. concinna* (%15,5), *H. marginatum* (%19,7), *R. bursa* (%7) türleri olduğu tespit edilmiştir. Konya yöresinde yapılan bu çalışmanın hedeflerinden birisi de, sığırlar üzerinde bulunan kene türlerini tespit etmek ve mevcut kenelerin aylara göre dağılımını belirlemekti. Bir yıl süren araştırma boyunca hayvanların üzerinden 101 adet kene toplanmış ve mevcut kenelerin tür identifikasyonları yapılmıştır. Muayene edilen sığırların üzerinde *H. a. anatolicum, H. a. excavatum, H. m. marginatum, I. ricinus, D. marginatus, R. turanicus, O. lahorensis, R. bursa, R. sanguineus* ve *Hae. parva* türlerine rastlanmıştır. *B. bigemina*'nın esas vektörü olan *Boophilus annulatus*'a rastlanamamıştır. Ancak, *B. bigemina*'nın naklinde *B. annulatus*'dan başka kene türleri de vektörlük yapabilir. Bu nedenle *B. bigemina*'nın bu bölgedeki primer vektörlerini belirlemeye yönelik araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Bu araştırmada sığırlar üzerinden toplanan kene sayısı, diğer araştırmalarla (Sayın ve Dumanlı 1982, Sayın ve Karaer 1987, Eren, 1992, İnci ve ark 2002, Yukarı ve Umur 2002, Çiçek 2004, Mamak ve ark 2006, İça ve ark 2007) kıyaslandığında daha düşük çıkmıştır. Bunun değişik sebepleri olabilir. Örneğin; Bu araştırmada, hayvan sahiplerinden alınan bilgiye göre tek geçim kaynağının hayvancılık olması sebebiyle hayvanların genel olarak iyi bakım ve beslenmeye tabi tutulduğu bildirilmiştir. Ayrıca, araştırma yapılan

dönemde Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalığının oldukça popüler olması dolayısıyla, gerek ahırların, gerekse hayvanların düzenli bir şekilde ilaçlandığı ifade edilmiştir. Bu gibi sebeplere bağlı olarak vektör kene popülasyonunun azalmış olabileceği düşünülebilir. Ayrıca çalışma şartlarının çok ağır olması, bazı durumlarda gece geç saatlerde ve aydınlatmanın yetersiz olduğu şartlarda örnek alınması dolayısıyla sığırların üzerindeki kenelerin gözden kaçmış olması da mümkündür. Bu sebeplerden dolayı, sığırlar üzerinden toplanan kene sayısı, diğer araştırmalarla kıyaslandığında daha düşük çıkmış olabilir.

Kenelerin bulaştırdıkları hastalıkların epidemiyolojisinin belirlenebilmesi ve kenelere karşı mücadele yöntemlerinin geliştirilebilmesi için, kenelerin mevsimsel etkinliklerinin bilinmesi son derece önemlidir. Türkiye'de *Ixodes* türlerinin Mart- Haziran, *Rhipicephalus* türlerinin Nisan- Eylül, *Hyalomma* türlerinin Nisan- Ekim, *Boophilus* türlerinin Ekim- Şubat, *Haemaphysalis* türlerinin Kasım- Şubat ayları arasında, *Dermacentor* türlerinin ise her mevsim görülebildiği bildirilmektedir (Merdivenci 1969, Sayın ve Dumanlı 1982). Bu çalışmada da, enfeste sığırlarda bulunan kene türlerinin aylara göre değiştiği dikkat çekmiştir. İlkbahar aylarında *H. a. anatolicum, H. a. excavatum, I. ricinus, D. marginatus, R. turanicus* ve *O. lahorensis*, yaz aylarında *H. a. anatolicum, H. m. marginatum, R. bursa, R. sanguineus, R.turanicus* ve *D. marginatus,* sonbahar aylarında *H. a. anatolicum, H. a. excavatum, H. m. marginatum, Hae. parva* ve *Hyalomma* sp. nimfleri, kış aylarında ise *Haemaphysalis sp.* nimfleri tespit edilmiştir. En çok görülen kene türlerinin ise *R. turanicus ve H. a. anatolicum* olduğu anlaşılmıştır. Bu sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla (Merdivenci 1969, Sayın ve Dumanlı 1982, Çakmak 1990, Eren 1992, İça ve ark 2007) uyumlu bulunmuştur.

Kenelerin aktiviteleri özellikle bulundukları bölgenin ısı, yağış ve nem durumu ile yakından ilişkilidir (Mahoney 1977, Friedhoff ve Smith 1981, Friedhoff 1988). Bu faktörlere bağlı olarak, hayvanlar üzerinden toplanan kene miktarı da değişebilmektedir. Bu çalışmada araştırma yapılan merkezlerin ortalama çevre ısıları, yağış ve nem oranları meteoroloji verilerine bakılarak kaydedilmiştir. Bu verilere göre, bu alanların ortalama çevre ısıları arasında önemli bir fark tespit edilememiştir (Tablo 4.8, 4.9, 4.10, 4.11). Ancak, yağış miktarı ve nem oranlarına bakıldığında, Kadınhanı ilçesinin ortalama en fazla yağış alan ilçe (%42.71) olduğu tespit edilmiş, bunu da %41.50 yağış oranıyla Beyşehir ilçesi izlemiştir. Bu oranların, Konya Merkez ve Çumra ilçelerinde sırasıyla %22.93 ve %22.49 olduğu gözlenmiştir. İlçelerin ortalama nem oranları değerlendirildiğinde, Beyşehir ve Kadınhanı ilçelerinin nem oranlarının sırasıyla %64.09 ve %63.08 olduğu tespit edilmiştir. Konya Merkez'de nem oranının % 57.93, Çumra ilçesinde ise %54.52 olduğu

gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre Çumra ilçesinin en kurak bölge olduğu dikkat çekmiştir. Bu çalışmada da, kene miktarı %10.89 oranıyla en az Çumra ilçesinde tespit edilmiştir. Beyşehir'de bu oran %15.94, Kadınhanı'nda ise %30.69 bulunmuştur. Konya Merkez, kısmen kurak bir bölge olmasına rağmen kene populasyonu bu bölgede oldukça fazla (%42.57) görülmüştür. Hayvan sahiplerinden alınan bilgiye göre, bu yöredeki sığırların bir kısmının farklı bölgelerden getirildiği tespit edilmiştir. Bu bölgede kene populasyonunun fazla çıkmasına bağlı olabilir.

6. SONUÇ

Babesia bigemina'dan kaynaklanan babesiosisin Konya yöresi sığırlarında oldukça yaygın olduğu gözlenmiştir. Araştırma süresince bütün ilçelerden toplanan 770 sığıra ait kan frotilerinin 15'inde (%1.95) mikroskobik olarak *B. bigemina* saptanmış, toplam 770 baş sığırın serumu IFAT'ne tabi tutulmuş ve bunların 331'i (%42.99) *B. bigemina*'ya spesifik antikorlar yönünden pozitif olarak tespit edilmiştir.

Muayene edilen hayvanlarda enfeksiyon oranları, yaş gruplarına bağlı olarak farklılık göstermiştir. En yüksek seropozitiflik 9-12 aylık yaş grubunda tespit edilmiştir.

Tüm gruplarda muayene edilen hayvanlar, endemik açıdan değişken bulunmuştur. Bu da, Konya yöresindeki sığırların büyük çoğunluğunun babesiosise karşı duyarlı olduğunu göstermektedir. Ancak %74.79 seropozitiflik oranına sahip olan 9-12 aylık yaş grubundaki sığırlarda, inokulasyon oranı, endemik yapının sabit olabilmesi için gerekli minimum inokulasyon oranına yakın (0.004) olarak bulunmuştur. Bu durumda 9-12 aylık yaş grubundaki sığırlarda endemik sabitliğin oluştuğu ve hayvanların enfekte kenelerle enfeste olması durumunda, akut hastalık tabloları ile karşılaşma ihtimalinin düşük olduğu belirtilmektedir. Bu çalışma, Konya yöresi sığırlarında babesiosisin endemik olarak sabit mi, yoksa değişken mi olduğunu bildiren ilk çalışma olması açısından önem taşımaktadır.

Yapılan bu çalışmanın sonuçlarına bakıldığında bölge, endemik değişken olarak değerlendirilmiş ve bu hastalıktan korunmada etkili bir aşının gerekliliği konusu önem kazanmıştır. Bundan sonra yapılacak çalışmaların, çeşitli yörelerle sınırlı kalmayıp tüm Türkiye çapında yapılmasının, hastalığın endemik durumunu ortaya çıkarması açısından oldukça önemli olduğu düşünülmüştür. Türkiye'de coğrafik suşlarımızdan hazırlanmış bir aşı bulunmamaktadır. Bu nedenle en yakın zamanda aşı çalışmalarının yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Sığırlarda *B. bigemina* enfeksiyonunun epidemiyolojik durumunu belirlemek amacıyla, sadece klinik ve mikroskobik metotların yeterli olmadığı, bunlara ilaveten serolojik teşhis metotlarından da yararlanılması gerektiği ortaya çıkmıştır.

B. bigemina'nın hatta diğer kan parazitlerinin bu bölgedeki primer vektörlerini ve biyo-ekolojik özelliklerini belirlemeye yönelik araştırmaların yapılması gerekmektedir.

7. ÖZET

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Parazitoloji (VET) Anabilim Dalı

DOKTORA TEZI / KONYA–2008

Özlem DERİNBAY EKİCİ

Konya yöresinde sığırlarda *Babesia bigemina*'nın seroepidemiyolojisi

Bu çalışma Nisan 2006- Mart 2007 tarihleri arasında Konya yöresi sığırlarında *Babesia bigemina*'nın seroepidemiyolojisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla Konya Merkez, Çumra, Beyşehir ve Kadınhanı ilçelerinden farklı yaş gruplarına (0-3 ay, 3-6 ay, 6-9 ay, 9-12 ay, 12-24 ay, 24-36 ay ve >36 ay) ait toplam 770 sığır muayene edilmiştir. *B. bigemina*'nın teşhisi, hem sürme kan frotilerinin mikroskobik muayenesi hem de Indirekt Fluoresan Antikor testi uygulanarak yapılmıştır. Araştırma süresince incelenen hayvanların %1.95'inde mikroskobik olarak parazit tespit edilirken, serolojik muayenede bu hayvanların %42.99'u *B. bigemina* antikorları yönünden pozitif bulunmuştur. *B. bigemina*'nın Konya merkez, Çumra, Beyşehir ve Kadınhanı ilçelerindeki seropozitiflik oranları sırasıyla %33.52, %44.34, %37.91 ve %54.82 olarak gözlenmiştir. Seropozitifliğin yaş gruplarına göre oranları sırasıyla %5.26, %14.29, %35.37, %74.79, %44.03, %39.81 ve %46.88 olarak tespit edilmiştir. Her yaş grubunun inokulasyon oranları da hesaplanarak hastalığın endemik yapısı belirlenmiştir. Grupların hepsinde *h* değeri'nin 0.005'in altında yer aldığı tespit edilmiş ve araştırma yapılan bölgelerde *B. bigemina*'nın endemik yapısının değişken olduğuna karar verilmiştir. Bir yaş üzerindeki hayvanların enfekte keneye maruz kalmaları halinde klinik enfeksiyonun şekillenme ihtimalinin yüksek olabileceği kanaatine varılmıştır.

Araştırma merkezlerine her ay düzenli olarak gidilmiş ve incelenen hayvanlar kene enfestasyonu yönünden de muayene edilmiştir. Muayene edilen sığırların üzerinden 101 adet kene toplanmış ve kenelerin tür tayini yapılmıştır. *H. a. anatolicum*, *H. a. excavatum*, *H. m. marginatum*, *I. ricinus, D. marginatus, Rh. bursa*, *Rh. turanicus, Rh. sanguineus*, *O. lahorensis*, *Hae. parva*, *Haemaphysalis* spp. (nimf) ve *Hyalomma* spp. (nimf) türlerine rastlanmıştır.

Anahtar kelimeler: *Babesia bigemina*, sığır, seroepidemiyoloji, IFAT, Konya yöresi.

8. SUMMARY

Seroepidemiology of *Babesia bigemina* in cattle in Konya province

This study was carried out to determine the seroepidemiology of *Babesia bigemina* in the cattle of Konya province between April 2006 and March 2007. In this study 770 cattle belonging to the different age groups (0-3, 3-6, 6-9, 9-12, 12-24, 24-36 and >36 months) were examined in the Konya centrum, Cumra, Beysehir and Kadinhani districts. Diagnosis of *B. bigemina* was made by both microscopic examination of thin-blood smears and Indirect Fluorescent Antibody Test. Piroplasms of *Babesia bigemina* were detected in 15 of the cattle (1.95 %) by microscopy. The antibodies against *B. bigemina* were detected in 331 cattle (42.99 %) by IFA test. The seropositivity rates of *B. bigemina* in the above districts were 33.52, 44.34, 37.91 and 54.82 %, respectively. The rates of seropositivity of the cattle in the above age groups were detected as 5.26, 14.29, 35.37, 74.79, 44.03, 39.81 and 46.88 %, respectively. The risk of outbreaks due to babesiosis was assessed by calculating the inoculation rate. The results indicated that the area was endemically unstable for babesiosis, as *h* values were below 0.005, the minimum level required for stability. The cattle older than 1 age were considered at risk of outbreaks due to babesiosis.

The animals were also examined for the tick infestations. 101 ticks were collected on the cattle. The species identification of ticks had made. Tick species identified from cattle were, *H. a. anatolicum*, *H. a. excavatum*, *H. m. marginatum*, *I. ricinus, D. marginatus, Rh. bursa*, *Rh. turanicus, Rh. sanguineus*, *O. lahorensis*, *Hae. parva*, *Haemaphysalis* spp. (nymph) and *Hyalomma* spp. (nymph).

Key words: *Babesia bigemina*, cattle, seroepidemiology, IFAT, Konya province.

9. KAYNAKLAR

Açıcı M (1995) *Samsun ve yöresi sığırlarında kan parazitlerinin yayılışı*. Etlik Veteriner Mikroiyoloji Dergisi, 8, 1, 271-277.

Ahmed J Alp H, Aksin M, Seitzer U (2007) *Current status of ticks in Asia.* Parasitology Research, 101, 159–162.

Ahmed J Yin H, Schnittger L, Jongejan F (2002) *Ticks and tick-borne diseases in Asia with special emphasis on China.* Parasitology Research, 88, 51-55.

Akınboade OA, Dipeolu OO (1984) *Comparison of blood smear and indirect antibody techniques in detection of Haemoparasite infections in trade cattle in Nigeria*. Vet Parasitol, 14, 95-104.

Akmaz A ve Günlü A (2003) Konya Ekonomisinde Hayvancılığın Yeri ve Önemi, Ulusal I. Konya Ekonomisi Sempozyumu, 18 Nisan 2003, 329- 358, Konya.

Aktaş M, Sevgili M, Dumanlı N, Karaer Z ve Çakmak A (2001) *Elazığ, Malatya ve Tunceli illerinde sığırlarda BabesiaTürlerinin Sero-Prevalansı*. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 25, 447-451.

Alabay M, Düzgün A ve Çerçi H (1987) *Ovine Babesiosis: Induction of a protective immune response with crude extracts of either Babesia bovis or B. ovis*. Res Vet Sci, 43, 401-402.

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

Anonim (1984) *Serological diagnosis. Epidemiology of Tick-Borne Diseases*. Field manuel vol II, FAO and Agriculture organisation of the United Nations, Rome, 333-373.

Anonim (2006a) T.C. Devlet İstatistik Enstitüsü İnternet sayfası www.tuik.gov.tr/Start.do.

Anonim (2006b) Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Konya Tarım İl Müdürlüğü 2006 yılı kayıtları, Konya.

Applewhaite LM, Craig TM, Wagner GG (1981) *Serological prevalence of bovine babesiosis in Guyana*. Tropical Animal Health Production, 13, 1,13-18.

Ardington PC (1982) *The benefits of intensive tick control*. The proceedings of a Symposium on Ecto-parasites of cattle, South African Bureau of Standarts, Pretoria, 136-140.

Aydın L (2000) *Güney Marmara Bölgesi ruminantlarında görülen kene türleri ve yayılışları*. T Parazitol Derg, 24, 1, 194-200.

Barros SL, Madruga CR, Araújo FR, Menk CF, de Almeida MA, Melo EP, Kessler RH (2005) *Serological survey of Babesia bovis, Babesia bigemina, and Anaplasma marginale antibodies in cattle from the semi-arid region of the state of Bahia, Brazil, by enzyme-linked immunosorbent assays*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 100, 513-517.

Benavides E, Vizcaino O, Britto CM, Romero A, Rubio A (2000) *Attenuated trivalent vaccine against babesiosis and anaplasmosis in Colombia*. Ann N Y Acad Sci, 916, 613-616.

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

Bigalke RD (1980) *The control of ticks and tick-borne diseases of cattle in South Africa*. Zimbabwe Veterinary Journal, 11, 20-21.

Bishop JP, Adams LG (1973) *Combination thin and thick blood films for the detection of Babesia parasitemia*. Am J Vet Res, 34, 1213-1214.

Blood DC, Radostits OM (1989) *Veterinary Medicine: A Textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. Seventh ed ELBS, Bailliere, Tindall, London.

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

Bose R, Jorgensen WK, Dalgliesh RJ, Friedhoff KT, De Vos AJ (1995) *Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis*. Veterinary Parasitology, 57, 1-3, 61-74.

Bourdoiseau G (2006) *Canine babesiosis in France*. Veterinary Parasitology, 138, 118-125.

Brizuela CM, Ortellado CA, Sanabria E, Torres O, Ortigosa D (1998) *The safety and efficacy of Australian tick-borne disease vaccine strains in cattle in Paraguay*. Veterinary Parasitology, 76, 1-2, 27-41.

Brocklesby DW (1976) *Recent observations on piroplasmosis of cattle in the United Kingdom*. Bull Off Int Epiz, 86, 19-26.

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

Brown WC, Palmer GH (1999) *Designing blood-stage vaccines against Babesia bovis and B. bigemina*. Parasitology Today, 15, 7, 275-281.

Buening GM, Kuttler KL, Rodriguez SD (1986) *Evaluation of a cloned Babesia bovis organism as a live immunogen*. Veterinary Parazitology, 22, 235-242.

Callow LL (1984) *Bovine babesiosis in Australia, Animal Health in Australia*. Australian Government Publishing Service, Canberra, 139-160.

Callow LL, Dalgliesh RJ (1982) *Immunity and Immunopathology in Babesiosis*, In "Immunology of Parasitic Infections" Eds by, Cohen S and Warren KS, Second Edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh, Boston Melbourne, 475-527.

Callow LL, Dalgliesh RJ, De Vos AJ (1997) *Development of effective living vaccines against bovine babesiosis-the longest field trial*. Int J Parasit, 27, 747–767.

Callow LL, Mc Gregor W, Parker RJ, Dagliesh RJ (1974) *Immunity of cattle to Babesia bigemina following its elimination from the host, with observations on antibody levels detected by the indirect fluorescent antibody test*. Aust Vet J, 50, 12-15.

Carpenter JW (2005) Exotic Animal Formularly, 3rd edition, Chapter 3, Circulatory System, 20-22.

Carrique JJ, Morales GJ, Edelsten M (2000) *Endemic instability for babesiosis and anaplasmosis in cattle in the Bolivian Chaco*. The Veterinary Journal, 160, 162-164.

Carson CA, Phillips RS (1981) *Immunologic response of the vertebrate host to Babesia*. In "Babesiosis" Ed by Ristic M, Kreier JP, Academic Pres, New York, 441-443.

Ceci L, Jongejan F, Carelli G, Tassi P, Sparagano O (1999) *Identification of Theileria buffeli/orientalis and Babesia bigemina in Apulian cattle using molecular techniques and study of changes in blood parameters*. Parassitologia, 1, 31-32.

Cringoli G, Otranto D, Testini G, Buono V, Dı Giulio G, Traversa D ve ark (2002) *Epidemiology of bovine tick-borne diseases in southern Italy*. Veterinary Research, 33, 421-426.

Çakmak A (1987) *Untersuchungen zur ınzidenz von Hamoparasiten in einer Rinderherde in der Provinz Ankara*. Hannover, Tierarztl Hochsch, Diss, 133.

Çakmak A (1990) *Ankara yöresinde bir sığır sürüsünde hemoparazitlerin insidensinin araştırılması*. AÜ Veteriner Fakültesi Dergisi, 37 3, 632-645.

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

Çiçek H (2004) *Ankara Yöresinde Haemaphysalis türleri üzerinde epizootiyolojik çalışmalar*. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 28, 107-113.

De Castro (1997) *Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries*. Veterinary Parasitology, 71, 77-97.

De Vos AJ, Every R (1981) *Epidemiology and control of bovine babesiosis in the Natal Midlands*. In "Tick Biology and Control, Proceedings of an International Conference" Ed by Whitehead GB, 27-29 January, Tick Research Unit, Rhodes University, Grahamstown, South Africa.

De Vos AJ, Jorgensen WK (1992) *Protection of cattle against babesiosis in tropical and subtropical countries with a live, frozen vaccine*. In "Tick Vector Biology: Medical and Veterinary Aspects Springer-Verlag" Ed by Fivaz B Petney T & Horak I Berlin Germany, 159-174.

De Vos AJ, Bock RE (2000) *Vaccination against bovine Babesiosis*. Ann N Y Acad Sci, 916, 540-545.

De Vos AJ, Jorgensen WK, Molloy JB (2000) *Bovine babesiosis*. Manual of Standards for Diagnostic Tests Vaccines, 4th ed OIE, Chapter 2.3.8., Paris, 412–422.

De Waal DT, Combrink MP (2006) *Live vaccines against bovine babesiosis*. Veterinary Parasitology, 138, 1-2, 88-96.

Dik B, Sevinç F (2002) *Veteriner Protozooloji*. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya.

Dinçer Ş, Sayın F, Karaer Z, Çakmak A, Friedhoff KT, Müler I, İnci A, Yukarı BA, Eren H (1991) *Karadeniz bölgesi sığırlarında bulunan kan parazitlerinin sero insidensi üzerine araştırmalar*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 38-41.

Dumanlı N ve Özer E (1987) *Elazığ yöresinde sığırlarda görülen kan parazitleri ve yayılışları üzerinde araştırmalar*. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 3, 1, 159-166.

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

Düzgün A, Schuntner CA, Wright IG, Leatch G, Waltisbuhl DJ (1988) *A sensitive ELISA Tecnique for the Diagnosis of Anaplasma marginale Infections*, Veterinary Parasitology, 29, 1-7.

Edelhofer R, Kanout A, Schuh M, Kutzer E (1998) *Improved disease resistance after Babesia divergens vaccination*. Parasitology Research, 84, 181-187.

Engvall E, Perlmann P (1972) *Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA: III. Quantitation of spesific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen- coated tubes*. J Immunol, 109 1, 129-135.

Eren H (1992) *Ankara yöresinde sığır babesiosisi üzerinde serolojik survey çalışmaları*. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Figueroa JV, Precigout E, Carcy B, Gorenflot A (2006) *Identification of common antigens in Babesia bovis, B. bigemina, and B. divergens*. Ann NY Acad Sci, 1081, 382-396.

Friedhoff KT (1988) *Transmission of Babesia*. In "Babesiosis of Domestic Animals and Man" Ed by Ristic M, CRC Press, Inc Boca Radon, Florida, 23-52.

Friedhoff KT, Smith RD (1981) *Transmission of Babesia by ticks*. In "Babesiosis", Ed by Ristic M, Kreier JP, Academic Pres, New York, 268-321.

Fujinaga T, Minami T (1980) *Serological relationship between a large Babesia found in Japanese cattle and B. major, B. bigemina and B. bovis*. Res Vet Sci, 29, 230-234.

Geleta AR (2005) *Antibody response to Babesia bigemina and Babesia bovis by vaccinated and unvaccinated cattle in an endemic area of South Africa*. Master thesis, University of Pretoria etd.

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

Goff WL, Johnson WC, Cluff CW (1998) *Babesia bovis immunity. In vitro and in vivo evidence for IL-10 regulation of IFN-gamma and iNOS*. Ann NY Acad Sci, 849, 161-180.

Goff WL, Johnson WC, Tuo W, Valdez RA, Parish SM, Barrington GM, Davis WC (2002) *Age-related innate immune response in calves to Babesia bovis involves IL-12 induction and IL-10 modulation*. Ann NY Acad Sci, 969, 164-168.

Goodger BV, Mahoney DF (1974) *Evaluation of the passive haemagglutination test fort he diagnosis of Babesia argentina infection in cattle*. Aust Vet J, 50, 246-249.

Göksu K (1959) *Ankara ve civarı sığırlarında theileriosis üzerinde sistematik araştırmalar*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Yayın No, 115/60, Yeni Matbaa, Ankara.

Göksu K (1968) *Bazı Karadeniz bölgesi illerinin sığırlarında müşahede edilen (Sporazoa: Piroplasmida) enfeksiyonları ve kene enfestasyonları*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15, 46-57.

Göksu K (1970) *Yurdumuzun çeşitli bölgelerinde sığırlarda piroplasmida enfeksiyonları (Piroplasmosis, Babesiosis, Theileriosis) ve Anaplasmosis'in yayılış durumları*. Türk Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi, 40, 4, 29-39.

Gray JS, De Vos A (1981) *Studies on a bovine Babesia transmitted by Hyalomma marginatum rufipes Koch, 1844*. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 48, 4, 215-223.

Guglielmone A.A (1995) *Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America*. Veterinary Parasitology, 57, 109-119.

Guglielmone AA, Lugaresi CI, Volpogni MM, Anziani OS, Vanzini VR (1997) *Babesial antibody dynamics after cattle immunisation with live vaccines, measured with an indirect immunofluorescence test*. Veterinary Parasitlogy, 70, 1-3, 33-39.

Güler S, Özer E, Erdoğmuş SZ, Köroğlu E, Bektaş İ (1993) *Malatya ve bazı Güneydoğu Anadolu illerinde sığır, koyun ve keçilerde bulunan kene (İxodidae) türleri*. Doğa Tr J Vet Anim Sci 17, 229-231.

Habela MA, Reina D, Nieto C, Navarrete I (1990) *Antibody response and duration of latent infection in sheep following experimental infection with Babesia ovis*. Veterinary Parasitology, 35, 1–10.

Habela MA, Reina D, Navarrete I, Redondo E, Hernandez S (1991) *Histopathological changes in sheep experimentally infected with Babesia ovis*. Veterinary Parasitology, 38, 1-12.

Hadani A, Haan L, Gonzalez L, Guglielmone AA, Bermudez A, Mangold A (1983) *The detection o babesiosis in bovines by indirect immunofluorescent antibody test compared to the prevalence of Babesia bovis in cerebral smears*. Br Vet J, 139, 208-212.

Hall WTK (1960) *The immunity of calves to Babesia argentina infection*. Australian Veterinary Journal, 36, 361-366.

Hall WTK (1963) *The immunity of calves to tick transmitted Babesia argentina infection*. Australian Veterinary Journal, 39, 386-389.

Hemmer RM, Ferrick DA, Conrad PA (2000) *Role of T cells and cytokines in fatal and resolving experimental babesiosis: protection in TNFR p55 -/- mice infected with the human babesia WA1 parasite*. J Parasitol, 86, 736-742.

Hiepe T, Jungman R (1983) *Lehrbuch der Parasitologie*. In "Veterinarmedizinische Protozoologie". Band 2, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Higuchi S, Ezura K, Hamana M, Kawamura S, Yasuda Y (1989) *Development of Babesia ovata in the midgut of the tick, Haemaphysalis longicornis*. Nippon Juigaku Zassi, 51, 1129-1135.

Hilton E, De Voti J, Benach JL, Halluska ML, White DJ, Paxton H, Dumler JS (1999) *Seroprevalence and seroconversion for tick-borne diseases in a high-risk population in the Northeast United States*. The American Journal of Medicine, 106, 404-409.

Hoffman G, Hörchner F, Schein E, Gerber H (1971) *Saisonales Auftreten von Zecken und Piroplasmen bei Haustieren in den asiatischen Provinzen der Türkei*. Berl, Münch, Tierarztl, Wschr, 84, 152-156.

Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford III SR, Krause PJ, Persing DH (2000) *Babesiosis*, Clinical Microbiology Reviews, 13, 3, 451-469.

İça A (2004) *Sığırlarda bazı Babesia türlerinin Reverse Line Blotting ve İndirekt Floresan Antikor Testi ile karşılaştırmalı tanısı*. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 1, 77-85.

İça A, Vatansever Z, İnci A (2005) *Bovine Babesiosis in Turkey*. Babesia World Summit, Buenos Aires, Argentina, 9-10.

İça A, İnci A, Vatansever Z, Karaer Z (2007) *Status of tick infestation of cattle in the Kayseri region of Turkey*. Parasitology Research, 101, 167-169.

İnci A (1992) *Ankara'nın Çubuk ilçesinde sığırlarda Babesiosis'in seroinsidensi üzerine araştırmalar*. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

İnci A, İça A, Albasan H (2007) *Babesia Enfeksiyonlarında İmmunite,* "Tıbbi ve Veteriner İmmunoparazitoloji" Ed by, Özcel MA, Turgay N, İnci A, Köroğlu E, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları No, 21, 508-516.

İnci A, Çakmak A, Karaer Z, Dinçer Ş, Sayın F, İça A (2002) *Kayseri yöresinde sığırlarda Babesiosis'in seroprevalansı*. Turk J Vet Anim Sci, 26, 1345-1350.

Johnston LAY, Pearson RD, Leatch G (1973) *Evaluation of an indirect fluorescent antibody test for detecting Babesia argentina infection in cattle*. Aust Vet J, 4, 373–377.

Johnston LAY, Trueman KF, Pearson RD (1977) *Bovine Babesiosis: Comparison of Fluorescent antibody and Giemsa Staining in Post-mortem diagnosis of infection*. Aust Vet J, 53, 222-226.

Karaer Z ve Nalbantoğlu S (2005) *Protozoon Hastalıklarında Tedavi*. "Parazit Hastalıklarında Tedavi" Ed, Burgu A ve Karaer Z, Türkiye Parazitoloji Derneği, Yayın No 19, 1-19.

Karaer Z, Yukarı BA, Aydin L (1997) *Türkiye Keneleri ve Vektörlükleri*. In "Parazitoloji'de Artropod Hastalıkları ve Vektörler" Eds by, Özcel MA, Daldal N, Ege Üniv, Basimevi, İzmir-Turkey, 363-458.

Karatepe B, Karatepe M, Nalbantoğlu S, Karaer Z, Çakmak A (2003) *Niğde Yöresinde Sığırlarda Babesiosis'in Prevalansı*. Türkiye Parazitoloji Dergisi 27, 4, 243-246.

Kaya G, Çakmak A, Karaer Z (2006) *Seroprevalence of theileriosis and babesiosis of cattle*. Med Wet, 62, 121-240, 156-158.

Kaya S ve Pirinçci İ (2002) *Protozoonları Etkileyen İlaçlar*. "Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji" Ed, Kaya S, Pirinçci İ and Bilgili A, Cilt 2, Baskı 3, Medisan Yayın Serisi, 55, 483-510.

Keirans JE (1992) *Systematics of the Ixodida (Argasidae, İxodidae, Nuttaliellidae): An Overview and Some Problems*. In "Tick Vector Biology. Medical and Veterinary Aspects" Ed by, Fivaz B, Petney T, Horak I. Springer – Verlag, Berlin Heidelberg, 1-23.

Keleş İ, Değer S, Altuğ N, Karaca M, Akdemir C (2001) *Tick-borne diseases in cattle: Clinical and haematological findings, diagnosis, treatment, seasonal distribution, breed, sex and age factors and the transmitters of the diseases*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 12, 26-32.

Kreier JP, Baker JR (1987) *Parasitic Protozoa*. Allen and Unwin. Inc., Boston.

Kung'u MW, Goodger BV (1990) *A slide enzyme-linked immunosorbent assay (SELISA) for the diagnosis of Babesia bovis infections and for the screening of Babesia-specific monoclonal antibodies*. Int J Parasitol, 20, 341-345.

Kurtpınar H (1954) *Türkiye keneleri*, Güven matbaası, Ankara, 112.

Kuttler KL (1988) *World-wide impact of babesiosis*. In "Babesiosis of Domestic Animals and Man" Ed by, Ristic M, CRC Press, Boca Raton, FL, 1–22.

Kuttler KL, Johnson LW (1986) *Chemoprophylactic activity of imidocarb, diminazene and oxytetracycline against Babesia bovis and B. bigemina.* Veterinary Parasitology, 21, 107–118.

Kuttler KL, Adams LG, Todorovic RA (1977) *Comparisons of the Complement-Fixation and Indirect Fluorescent Antibody Reactions in the Detection of bovine Babesiasis*. Am J Vet Res 38, 153-156.

Leeflang P, Perie NM (1972) *Comparative immunfluorescent studies on 4 Babesia species of cattle*. Res Vet Sci, 13, 342-346.

Levine ND (1985) *Veterinary Protozoology*. 1st ed, Iowa State University Press, Ames, 291–329.

Madruga CR, Kessler RH, Schenk MAM, Miguita MA (2000) Conglutination test for rapid detection of antibodies against Babesia bigemina. Pesq Vet Bras, 20, 4, 161-166.

Mahoney DF (1967) *Bovine Babesiosis: The passive Immunization of calves against Babesia argentina with Special Reference to the Role of Complement Fixing Antibodies*. Experimental Parasitology, 20, 119-124.

Mahoney DF (1977) *Babesia of Domestic Animals*. Parasitic Protozoa, Volume IV, Ed by, Kreier JP, Academic Pres, London.

Mahoney DF (1983) *Studies on the protection of cattle against Babesia bovis infection*. "Tropical Parasitoses and Parasitic Zoonoses" Ed by, Jon D Dunsmore, 93-104.

Mahoney DF, Ross DR (1972) Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. Aust Vet J, 48, 292-298.

Mahoney DF, Saal JR (1961) *Bovine babesiosis: thick blood filmsfor the detection of parasitemia*. The Australian Veterinary Journal, 44-47.

Mamak N, Gençer L, Özkanlar YE, Özçelik S (2006) *Sivas-Zara Yöresindeki Sığır, Koyun ve Keçilerde Kene Türlerinin Belirlenmesi ve Sağaltımı*. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 30, 3, 209-212.

Mc Cosker PJ (1979) *Global aspects of the management and control of ticks of veterinary importance*. Recent Advances of Acarology, 11, 45-53.

Mc Cosker PJ (1981) *The global importance o babesiosis*. In "Babesiosis of Domestic Animals and Man" Ed by, Ristic M, Florida, CRC Press, 1-22.

Merck (2007) Veterinary February http://www.merckveterinarymanual.com/mvm/ index.jsp?cfile=htm/bc/10402.html.

Merdivenci A (1969) *Türkiye Keneleri Üzerine Araştırmalar*. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, Kutulmuş Basımevi, İstanbul.

Mimioğlu M (1954) *Die Schildzecken (İxodidae) der Haustiere in der Türkei*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 1, 20-34.

Mimioğlu M (1955) *Samsun, Ordu, Giresun ve Bolu vilayetlerinde ÒHaematuria vesicalis bovis'li sığırlarda parazitolojik araştırmalar*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2, 182-193.

Mimoğlu M (1956) *Rapor*. Türk Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi, 120-121, 3239-3242.

Mimioğlu M, Göksu K, Sayın F (1969) *Veteriner ve Tıbbi Protozooloji II*. Ankara Üniversiesi, Veteriner Fakültesi, Yayın 248, Ders Kitabı 150, Ankara Üniversitesi Basımevi, 880-966.

Mimioğlu M, Ulutaş M, Güler S (1971) *Yurdumuz sığırlarında theileriosis etkenleri ve diğer kan parazitleri*. Ajans-Türk Matbaacılık Sanayi, Ankara, 89.

Minjauw B, McLeod A (2003) *Tick-borne disease and povert*. Research report, DFID Animal Health Programme, Centre for Tropical Veterinary Medicine, University of Edinburgh, UK.

Mohamed AA, Yagoup IA (1990) *Outbreaks of babesiosis in domestic livestock in the eastern region of the Sudan*. Tropical Animal Health Production, 22, 2, 123-125.

Montenegro- James (1992) *Prevalence and control of Babesiosis in the Americas*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 87, 27-36.

Morzaria SP, Young AS (1977) Identification of Babesia bigemina in the Boophilus decoloratus by the indirect fluorescent antibody technique. Res Vet Sci, 23, 55-58.

Nierlich S (1990) Ein ELISA zur serodiagnose von Babesia ovis – infectionen beim schaf. Tierarztl, Hochsch, Diss, Hannover.

Norval RAI, Fivaz BH, Lawrence JA, Dailecourt T (1983) *Epidemiology of tick-borne diseases of cattle in Zimbabwe*. 1. Babesiosis. Tropical Animal Health and Production, 15, 87-94.

Özcan HC (1961) *Ankara ve civarında evcil hayvanlarda piroplasmose vakaları ve tedavileri üzerinde araştırmalar*. Tez, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 143.

Özcel MA, Üner A, Ertuğ S (1997) *Immunfloresans Yöntemi*. In "Parazit Hastalıklarında Tanı" Ed by, Özcel MA, Altıntaş N, Türkiye Parazitoloji Derneği, Yayın No, 15, 215-239.

Özer E, Erdoğmuş Z, Köroğlu E, Yılmaz F (1993) *Malatya ve Güneydoğu Anadolu illerinde sığır, koyun ve keçilerde bulunan kan parazitleri ve yayılışları*. Doğa Tr J Vet Animal Sciences, 17, 209-215.

Özkoç Ü (1973) *Marmara bölgesinde Boophilus calcaratus (Birula, 1895)'un Piroplasma bigemina (Patton, 1895)'in vektörü olduğunu kanıtlayan bulgularımız*. Pendik Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Dergisi, 6, 105-116.

Papadopoulos B, Brossard M, Perie NM (1996) *Piroplasms of domestic animals in Macedonia of Greece. 3. Piroplasms of small ruminants*. Veterinary Parasitology, 63, 67–74.

Pipano E (1995) *Live vaccines against hemoparasitic diseases in livestock*. Veterinary Parasitology, 57, 1-3, 213-231.

Purnell RE (1981) *Babesiosis in variosis host*. In "Babesiosis" Ed by, Ristic M, and Kreier PJ, Academic Pres, Newyork, 25-39.

Purnell RE, Hendry DJ, Bidwell DE, Turp P (1976) *Microplate enzyme linked immunosorbent assay for antibody to Babesia divergens in cattle*. Veterinary Record, 99, 102.

Regassa A, Penzhorn BL, Bryson NR (2003) *Attaintment of endemic stability to Babesia bigemina in cattle on a South African ranch where non-intensive tick control was applied*. Veterinary Parasitology, 116, 267-274.

Ristic M (1981) *Babesiosis*. In "Diseases of cattle in the Tropics" Ed by, Ristic M, Intyre Mc, The Hauge, 443-468.

Ristic M (1984) *Research on babesiosis vaccines*. "Malaria and Babesiosis" Ed by, Ristic M, Amrtouse T, Kreier JP, Martinus Nijhoff Publisher, 103-121.

Ristic M, Levy MG (1981) *A new era of research toward solution of bovine babesiosis*. In "Babesiosis" Ed by, RisticM, Kreier JP, Academic Pres, New York, 509-549.

Rojas C, Figueroa JV, Alvarado A, Mejia P, Mosqueda JJ, Falcon A, Vega CA, Alvarez A (2006) *Bovine babesiosis live vaccine production: use of gamma irradiation on the substrate*. Ann N Y Acad Sci, 1081, 405-416.

Ross JP, Lohr KF (1968) *Serological diagnosis of Babesia bigemina infection in cattle by the indirect fluorescent antibody test*. Res Vet Sci, 9, 557–562.

Rubaire-Akiiki C, Okello-Onen J, Nasinyama GW, Vaarst M, Kabagambe EK, Mwayi W, Musunga D, Wandukwa W (2004) The prevalence of serum antibodies to tick-borne infections in Mbale District, Uganda. The effect of agro-ecological zone, grazing management and age of cattle. Journal of Insect Science, 4,8, 1-8.

Sahibi H, Rhalem A, Berrag B, Goff WL (1998) Bovine babesiosis. Seroprevalence and ticks associated with cattle from two different regions of Morocco. Ann NY Acad Sci, 849, 213-218.

Sayın F ve Dumanlı N (1982) *Elazığ bölgesinde evcil hayvanlarda görülen kene (İxodidae) türleri ile ilgili epizootiolojik araştırmalar*. Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi, 29, 3-4, 344-362.

Sayın F ve Karaer Z (1987) *Ankara yöresinde sığır ve koyunlarda kene enfeksiyonu üzerine araştırmalar*. Türk Veteriner Hekimleri I. Bilim Kongresi, Bildiri özetleri, Tebliğ No 24, Ankara.

Sayın F, Friedhoff KT, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Eren H (1989) *Ankara yöresi sığırlarında kan parazitlerinin sero-insidensi üzerine araştırmalar*. 6 Ulusal Parazitoloji Kongresi, tebliğ özetleri, No 103.

Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Friedhoff KT, Miller I (1996) *Studies on Seroprevalence of Babesia Infection of Cattle in Turkey*. In "New Dimensions in Parasitology" Ed by, Özcel MA, Proceedings of the VIII International Congress of Parasitology ICOPA VIII, Acta Parasitologica Turcica, 505-516.

Sevinç F (1996) *Konya yöresi koyunlarında Babesia ovis'in ELISA ile teşhisi*. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Sevinç F, Özdemir Ö, Coşkun A (2005) *On günlük bir buzağıda akut babesiosis*. Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi, 2, 2, 131-135.

Sevinç F, Sevinç M, Birdane FM, Altınöz F (2001) *Prevalence of Babesia bigemina in cattle*. Revue Med Vet 152, 5, 395-398.

Sharan KP, Krause PJ (2000) *Babesiosis, Tickborne Infectious Diseases: Diagnosis and Management.* Ed by, Cunha BA, Marcel Dekker Incorporated, New York, NY, USA, 111-120.

Shkap V, Pipano E (2000) *Culture-derived parasites in vaccination of cattle against tick-borne diseases*. Ann N Y Acad Sci, 916, 154-171.

Shkap V, Rasulov I, Abdurasulov S, Fish L, Leibovitz B, Krigel Y, Molad T, Mazuz ML, Savitsky I (2007) *Babesia bigemina: attenuation of an Uzbek isolate for immunization of cattle with live calf- or culture-derived parasites*.Veterinary Parasitology, 146, 3-4, 221-226.

Smith RD, Evans DE, Martins JR, Ceresér VH, Correa BL, Petraccia C, Cardozo H, Solari MA, Nari A (2000) *Babesiosis (Babesia bovis) stability in unstable environments*. Ann N Y Acad Sci, 916, 510-20.

Soulsby EJL (1987) *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*, 7th Ed Bailliere Tindall London UK.

Swai ES, French NP, Beauchamp G, Fitzpatrick JL, Bryant MJ, Kambarage D, Ogden NH (2005) *A longitudinal study of sero-conversion to tick-borne pathogens in smallholder dairy youngstock in Tanzania*. Veterinary Parasitology, 131, 129-137.

Tanyüksel M, Vatansever Z, Karaer Z, Araz E, Haznedaroğlu T, Yukarı BA, Açıcı M (2002) *Sığır Babesiosisinin Epidemiyolojisi Ve Zoonotik Önemi*. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 26, 1, 42-47.

Teglas M, Matern E, Lein S, Foley P, Mahan SM, Foley J (2005) *Ticks and tick-borne disease in Guatemalan cattle and horses*. Veterinary Parasitology, 131, 119-127.

Tenter AM, Friedhoff KT (1986) Serodiagnosis of experimental and natural Babesia equi and B. caballi infections. Veterinary Parasitology, 20, 49-61.

Todorovic RA (1975) *Serologic diagnosis of babesiosis*. Tropical Animal Health and Production, 7, 1, 1-14.

Todorovic RA, Carson CA (1981) *Methods for Measuring the Immunological Response to Babesia*. In "Babesiosis" Ed by, Ristic M, and Kreier JP, Academic Pres, New York.

Tonnesen M (2005) *Distrubution of Boophilus microplus and Boophilus decoloratus and associated occurrence of babesia species in cattle in the Soutpansberg region, northern province, South Africa*, Master thesis, University of Pretoria etd.

Turul T, Ersoy F (2004) *Dostu düşman ayıran bir doğal immünite bileşeni: toll-like reseptörler (TLR)*. Hacettepe Tıp Dergisi, 35, 114-118.

Tüzer E (1981) *İstanbul ili ve çevresinde sığırlarda görülen Babesia, Theileria ve Anaplasma türleri ve bunlardan oluşan enfeksiyonların yayılışı üzerinde araştırma*. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 8, 97-110.

Uilenberg G (2006) *Babesia-A historical overwiev*. Veterinary Parasitology, 138, 3-10.

Vatansever Z (2008) www.klimik.org.tr/KKHA/Keneler%20ve%20CCHF.pdf.

Vial HJ, Gorenflot A (2006) *Chemotherapy against babesiosis*. Veterinary Parasitology, 138, 147–160.

Vidotto O, Barbosa CS, Andrade GM, Machado RZ, da Rocha MA, Silva SS (1998) *Evaluation of a frozen trivalent attenuated vaccine against Babesiosis and anaplasmosis in Brazil*. Ann N Y Acad Sci, 849, 420-423.

Weiland G, Reiter I (1988) *Methods for the measurement of the serological response to Babesia*. In "Babesiosis of Domestic Animals and Man" Ed by, Ristic M, CRC Press, Boca Raton, 146-162.

Woodford JD, Jones TW, Rae PF, Boid R and Bell-Sakyi L (1990) *Seroepidemiological studies of bovine babesiosis on Pemba Islands, Tanzania*. Veterinary Parasitology, 37, 3-5, 175-184.

Wright IG (1990) *Immunodiagnosis of and immunoprohylais against the haemoparasites Babesia sp. and Anaplasma sp. in Domestic Animals*. Rev Sci Tech Off Int Epiz, 9, 2, 345-356.

Wright IG, Goodger BV, Leatch G, Aylward JH, Rode-Bramanis K, Waltishbuhl DJ (1987) *Protection of Babesia bigemina-immune animals against subsequent challenge with virulent Babesia bovis*. Infection and Immunity, 55, 364-368.

Young ER (1988) *Epidemiology of Babesiosis*. In "Babesiosis of Domestic Animals and Man" Ed by, Ristic M, CRC Pres, Boca Raton, Florida, 81-98.

Young ER, Purnell RE (1980) *Evaluation of dried blood samples as a source of antibody in the micro ELISA test for Babesia divergens*. Veterinary Record, 106, 60.

Yukarı BA, Karaer Z (1996) *Babesiosis*. Vet Hek Derneği Dergisi, 67, 46-54.

Yukarı BA, Umur Ş (2002) *Burdur yöresindeki sığır, koyun ve keçilerde kene (İxodidae) türlerinin yayılışı*. Turkish Journal of Veterinary Animal Science, 26, 1263-1270.

Zintl A, Mulcahy G, Skerrett HE, Taylor SM, Gray JS (2003) *Babesia divergens, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance*. Clinical Microbiology Reviews, 16, 622–636.

10. ÖZGEÇMİŞ

Özlem Derinbay Ekici 1979 yılında Konya'da doğdu. İlköğrenimini İnkılap İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimini Selçuklu Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 1997 yılında girmiş olduğu Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni 2002 yılında bitirdi. 2003 yılı bahar döneminde Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde doktoraya başladı. 2004 yılında açılan araştırma görevliliği sınavı kazanarak, 19.01.2004 tarihinde Parazitoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. Halen Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında görev yapmaktadır. Evli ve bir çocuk annesidir. İngilizce bilmektedir.

11. TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın yapılmasında araştırmayı maddi olarak destekleyen Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP)'ne ve TÜBİTAK'a, çalışmalarımın baştan sona kadar her aşamasında benden yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ferda SEVİNÇ'e, istatistiki işlemlerde elinden gelen tüm yardımı yapan Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Enver YAZAR'a, toplanan kenelerin teşhis edilmesindeki yardımlarından dolayı Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Levent AYDIN'a, materyal toplama sırasındaki emeklerinden dolayı Arş. Gör. Alparslan COŞKUN'a ve hiçbir zaman desteğini esirgemeyen eşime teşekkür ederim.