

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OĞUZLAR YÖRESİNDEKİ SIĞIRLARDA *NEOSPORA CANINUM* VE
BESNOİTIA BESNOİTI'NİN SEROPREVALANSI**

TEZİ HAZIRLAYAN

Veteriner Hekim Dilek KULA

**PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Sami GÖKPINAR

2019 – KIRIKKALE

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OĞUZLAR YÖRESİNDEKİ SIĞIRLARDA *NEOSPOR* *CANINUM* VE
BESNOİTİA BESNOİTİ'NİN SEROPREVALANSI**

TEZİ HAZIRLAYAN

Veteriner Hekim Dilek KULA

**PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Sami GÖKPİNAR

Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi, 2018/017

2019 – KIRIKKALE

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	I
İçindekiler.....	III
Önsöz.....	IV
Simgeler ve Kısaltmalar.....	V
Şekiller.....	VI
Çizelgeler.....	VII
ÖZET	VIII
SUMMARY	1
GİRİŞ	1
1.1. <i>Neospora caninum</i>	1
1.1.1. <i>Neospora caninum</i> 'un Tarihçesi ve Sistematikteki Yeri.....	3
1.1.2. <i>Neospora caninum</i> 'un Morfolojisi.....	4
1.1.3. Biyolojik Gelişme.....	6
1.1.4. <i>Neospora caninum</i> 'un Epidemiyolojisi.....	7
1.1.4.1. Türkiye'de sığırlarda <i>Neospora caninum</i> 'un Yayılışı.....	8
1.1.4.2. Dünyadaki sığırlarda <i>Neospora caninum</i> 'un Yayılışı.....	10
1.1.5. Patogenez ve Klinik Belirtiler.....	13
1.1.6. Teşhis.....	14
1.1.7. Tedavi, Koruma ve Kontrol.....	16
1.2. <i>Besnoitia besnoiti</i>	16
1.2.1. <i>Besnoitia besnoiti</i> 'nin Tarihçesi ve Sistematikteki Yeri.....	18
1.2.2. <i>Besnoitia besnoiti</i> Morfolojisi.....	19
1.2.3. Biyolojik Gelişme.....	20
1.2.4. <i>Besnoitia besnoiti</i> 'nin Epidemiyolojisi.....	21
1.2.4.1. Türkiye'de Sığırlarda <i>Besnoitia besnoiti</i> 'nin Yayılışı.....	21
1.2.4.2. Dünyadaki Sığırlarda <i>Besnoitia besnoiti</i> 'nin Yayılışı.....	23
1.2.5. Patogenez ve Klinik Belirtiler.....	28
1.2.6. Teşhis.....	30
1.2.7. Tedavi, Koruma ve Kontrol.....	32
2.GEREÇ VE YÖNTEM	32
2.1.Çalışma Merkezinin Seçimi.....	33
2.2.Saha Çalışmaları.....	34
2.3. Laboratuvar Çalışmaları.....	34
2.3.1. Kan Serumlarının Elde Edilmesi.....	34
2.3.2. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Testi (ELISA).....	34
2.3.2.1. <i>Neospora caninum</i> Antikorlarının Aranması.....	35
2.3.2.1.1.Ön Hazırlık Aşaması.....	36
2.3.2.1.2. ELISA Testinin Yapılışı.....	

2.3.2.1.3.Sonuçların Değerlendirilmesi ve Yorumlanması.....	37
2.3.2.2. <i>Besnoitia besnoiti</i> Antikorlarının Aranması.....	38
2.3.2.2.1. Ön Hazırlık Aşaması.....	39
2.3.2.2.2. ELISA Testinin Yapılışı.....	39
2.3.2.2.3. Sonuçların Değerlendirilmesi ve Yorumlanması.....	42
2.3.4.İstatistiksel Analiz.....	43
3. BULGULAR.....	44
3.1. Örneklenen Hayvanlara Ait Epidemiyolojik Veriler.....	44
3.2. <i>Neospora caninum</i> ve <i>Besnoitia besnoiti</i> ELISA Sonuçları.....	44
3.2.1. <i>Neospora caninum</i> ELISA Sonuçları.....	45
3.2.2. <i>Besnoitia besnoiti</i> ELISA Sonuçları.....	47
4.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	51
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	82

ÖNSÖZ

Kıymetli danışmanım Doç. Dr. Sami GÖKPINAR'ın sağladığı teknik ve doküman yardımları ile “Oğuzlar ilçesindeki sığırlarda, *Neospora caninum* ve *Besnoitia besnoiti* seroprevalansı” adlı tez çalışması yürütülmüştür. Çalışmada bu protozoonların bu bölgedeki varlığının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışma merkezi olarak Çorum'un Oğuzlar ilçesinde yer alan 10 farklı çiftlik seçilmiş ve analizler için 100 adet sığırdan kan örneği alınmıştır. Serolojik inceleme için Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Seroloji Laboratuvarı olanaklarından yararlanılmıştır. Çalışmada, 100 sığırın kan serumları ELISA testi ile incelenmiş ve *N. caninum* ve *B. besnoiti* yönünden araştırılmıştır.

Bu araştırmanın planlanması ve yürütülmesi sırasında beni yönlendiren, çalışmamın her aşamasını titizlikle takip eden ve desteklerini ve deneyimlerini benden esirgemeyen Danışman hocam Sayın Doç. Dr. Sami GÖKPINAR'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu günlere ulaşmamda emeği geçen Parazitoloji Anabilim Dalı Sayın Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Kader YILDIZ, Prof. Dr. Meral AYDENİZÖZ ve Dr. Öğr. Üyesi Aycan Nuriye GAZYAĞCI'ya teşekkür ederim.

Saha çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Oğuzlar İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü'nde görevli Veteriner Hekim Mehmet Ali KIZIR'e teşekkürlerimi borç bilirim.

Tezimi maddi olarak destekleyen Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyonu Birimine (Proje no: 2018/017) teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

- g:** Gram
µm: Mikrometre
nm: Nanometre
ml: Mililitre
mm: Milimetre
°C: Derece Celsius
%: Yüzde
km: Kilometre
B-MAT: Modifiye Aglütinasyon Testi
cELISA: Kompetatif Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EFSA: European Food Safety Authority
IFAT: İndirekt Floresan Antikor Testi
IHC: İmmunohistokimya
NAT: *Neospora caninum*-Aglütinasyon Testi
NTZ: Tirozolid Nitazoksanid
MAT: Modifiye Aglütinasyon Testi
PCR: Polymerase Chain Reaction
PAS: Periodic Acid Schiff
DNA: Deoksiribonükleik Asit
OD: Optikal Yoğunluk
MSS: Merkezi Sinir Sistemi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. <i>Neospora caninum</i> 'un yaşam çemberi.....	6
Şekil 1.2. <i>Besnoitia besnoiti</i> 'nin yaşam çemberi.....	20
Şekil 1.3. Akut besnoitiosis'te fotofobi ve ateş ile ilişkili oküler akıntı.....	24
Şekil 1.4. Sklera ve konjunktivada kistler.....	25
Şekil 1.5. A: Kronik enfekte bir sığırdaki skleroderma B: Skleroderma ve alopesi	26
Şekil 1.6. Bacaklarda ödemli şişkinlik.....	27
Şekil 2.1. Çorum il haritası.....	32
Şekil 2.2. Serolojik analizde kullanılan ticari kompetatif ELISA kiti.....	35
Şekil 2.3. ELISA yıkama işleminin yapılması.....	36
Şekil 2.4. Serolojik analizde kullanılan ticari kompetatif ELISA kiti.....	38
Şekil 2.5. ELISA'da örneklerin kuyucuklara dağıtılması.....	40
Şekil 2.6. <i>Besnoitia besnoiti</i> ELISA yıkama işleminin yapılması.....	41
Şekil 2.7. ELISA sonuçlarının mikroplyet okuyucuda analiz edilmesi.....	42

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Türkiye’de sığırlarda <i>Neospora caninum</i> ’un seroprevalansı.....	7
Çizelge 1.2. Dünyada sığırlarda <i>Neospora caninum</i> ’un seroprevalansı.....	9
Çizelge 1.3. Dünyada sığırlarda <i>Besnoitia besnoiti</i> ’nin seroprevalansı.....	22
Çizelge 3.1. Örnek alınan sığırların ırklara göre dağılımı	44
Çizelge 3.2. Örnek alınan sığırların yaş ve cinsiyete göre dağılımı.....	44
Çizelge 3.3. Sığır ırklarına göre <i>Neospora caninum</i> seropozitifliğinin dağılımı...	45
Çizelge 3.4. Yaş gruplarına göre <i>Neospora caninum</i> seropozitiflik dağılımı.....	46
Çizelge 3.5. Cinsiyete göre <i>Neospora caninum</i> seropozitiflik dağılımı.....	47
Çizelge 3.6. Irklara göre <i>Besnoitia besnoiti</i> seropozitiflik dağılımı.....	48
Çizelge 3.7. Yaş gruplarına göre <i>Besnoitia besnoiti</i> seropozitiflik dağılımı.....	49
Çizelge 3.8. Cinsiyete göre <i>Besnoitia besnoiti</i> seropozitiflik dağılımı.....	50

ÖZET

Oğuzlar Yöresindeki Sığırlarda *Neospora caninum* ve *Besnoitia besnoiti*'nin Seroprevalansı

Bu çalışmanın amacı Çorum iline bağlı Oğuzlar ilçesindeki sığırlarda, *N. caninum* ve *B. besnoiti* seroprevalansının araştırılması ve bu etkenlerin bölgedeki varlığının tespit edilmesidir.

Bu amaçla, Oğuzlar yöresindeki 100 sığırın *vena jugularis*inden antikoagulantsız tüplere venöz kan örneği alınmıştır. Kan örnekleri soğuk zincirde Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarına ulaştırılmıştır. Bu kanlardan elde edilen serum örnekleri kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Kan serumları *N. caninum* ve *B. besnoiti* yönünden ticari c-ELISA kitleri ile muayene edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen serum örneklerinden ikisi *N. caninum* (%2), 5 tanesi ise *B. besnoiti* (%5) yönünden seropozitif olarak tespit edilmiştir. Örneklenen sığırların hiç birinde miks enfeksiyon tespit edilmemiştir. *Neospora caninum* seropozitif olarak tespit edilen örneklerden biri 1 yaş altında iken, diğeri ise 1-5 yaş arasındadır. *Besnoitia besnoiti* yönünden seropozitif tespit edilen sığırlardan 4 tanesi 1-5 yaş arası, 1 tanesi ise 6 yaşından büyük hayvanlardır. *Neospora caninum* ve *B. besnoiti* seropozitif olarak tespit edilen hayvanların tümü dişi hayvanlardır. Ancak her iki parazite ait seropozitiflik bakımından yaş grupları ve cinsiyet açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sonuç olarak bu çalışma ile Oğuzlar yöresinde *N. caninum* ve *B. besnoiti* varlığı serolojik olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma bölgede *B. besnoiti* yönünden seropozitif sığırların belirlendiği ilk çalışma olup, Türkiye'de ise üçüncü çalışmadır.

SUMMARY

Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in cattle in Oğuzlar region

The aim of this study is to investigate the seroprevalence of *N. caninum* and *B. besnoiti* in cattle in the Oğuzlar district of Çorum province and to determine the presence of these protozoa in the region.

For this purpose, venous blood samples were collected from the *vena jugularis* of 100 cattle in the Oğuzlar region to anticoagulant- free tubes. Blood samples were brought to the Serology Laboratory of the Parasitology Department of the Veterinary Faculty of Kırıkkale University in the cold chain. Serum samples extracted from these bloods were stored at -20 °C until use. Serum samples were examined with commercial c-ELISA kits for *N. caninum* and *B. besnoiti*.

Two of the serum samples were found to be *N. caninum* (2%) and 5 were seropositive for *B. besnoiti* (5%). No mixed infection was detected in any of the serum sampled. One of the samples identified as *N. caninum* seropositive was under 1 year of age and the other was between 1-5 years of age. Four of the cattle seropositive for *B. besnoiti* were 1-5 years old and one cattle was older than 6 years old. All of the cattle that were found to be seropositive in terms of *N. caninum* and *B. besnoiti* were female. However, there was no statistically significant difference in terms of age and gender in terms of seropositivity of both parasites.

As a result, the presence of *N.caninum* and *B.besnoiti* in Oğuzlar region were determined serologically. This study, the *B. besnoiti* about in the region is the first study to identify the seropositive cattle, is the third study in Turkey.

1. GİRİŞ

Neospora caninum genellikle sığır ve köpeklerde görülen nadiren de koyun, keçi ve at da görülebilen protozoal bir parazittir. İlk olarak 1984 yılında köpek yavrularında bulunmuş fakat *Toxoplasma gondii*'ye benzerliği sebebiyle yanlış teşhis edilmiştir ve daha sonra 1988 yılında *Neospora caninum* olarak adlandırılmıştır. Son yıllarda yapılan araştırmalarda *N. caninum* dünyadaki sığır abortlarının önemli etkenlerinden biri olarak bildirilmektedir (Dubey ve ark. 1988, Aydın 2013).

Sığır besnoitiosis, boğalarda geçici veya kesin sterilite, deri lezyonları, zayıf vücut kondisyonu, ara sıra abortlar nedeniyle sığır verimliliğini tehlikeye atabilen, Apicomplexan protozoon parazit *B. besnoiti*'nin neden olduğu paraziter bir hastalıktır (Alvarez-Garcia ve ark. 2013).

1.1. *Neospora caninum*

1.1.1. *Neospora caninum*'un Tarihçesi ve Sistematikteki Yeri

İlk olarak 1984 yılında sinirsel bozukluk ve felç bulguları gösteren bir köpekte *N. caninum*'a rastlanmış ve morfolojik olarak *T.gondii*'ye benzediği bildirilmiştir (Dubey ve ark. 1988). 1988'e kadar *N. caninum* ve *T. gondii* arasındaki biyolojik ve yapısal benzerlikler nedeniyle neosporosis hastalığına yanlışlıkla toxoplasmosis tanısı konulmuştur (Anderson ve ark. 2000, Reichel 2000a). Amerika Birleşik Devletleri'nin, Boston şehrinde bulunan Angell Memorial Hayvan Hastanesi'nde Dubey ve ark. (1988) 1948–1987 yılları arasında toxoplasmosis olarak teşhis edilen vakalardan elde ettikleri histolojik kesitleri tekrar incelemişler ve etkenin immunolojik yapısının *T. gondii*'den farklı olduğunu tespit etmişlerdir. Daha

sonra doku kültüründen izole edilen bu yeni cins *Neospora* ve bu cinse ait türe 1988 yılında *N. caninum* ismi verilmiştir (Dubey ve ark. 1988). Yapılan araştırmalar sonucunda parazitin son konağının köpek olduğu, arakonak görevini ruminantlar, at ve kemirici hayvanların yaptığı bildirilmiştir (McAllister ve ark. 1998).

1957 yılından başlamak üzere saklanan köpeklere ait doku örneklerinde yapılan retrospektif çalışmada *N. caninum* tespit edilmiş ve önceki yıllarda bu örneklerin *T. gondii*'ye olan benzerliğinden dolayı yanlış teşhis edildiği ifade edilmiştir (Dubey ve Lindsay 1996). Amerika Birleşik Devletleri'nin Kaliforniya Eyaletinde *Neospora* enfeksiyonları sığır abortlarının büyük bir sebebi olarak kabul edilmiştir (Anderson ve ark. 1991).

1997 yılında sığırlarda vertikal bulaşmanın varlığı bildirilmiştir (Pare ve ark. 1997) ve 1998 yılında ise parazitin son konağının köpek olduğu belirlenmiştir (McAllister ve ark. 1998). Enfekte ara konakların dokularını yiyen kurtlarının (*Canis latrans*) dışkıları ile ookist attıkları ve bu ookistler ile de parazitin biyolojisinde son konak olarak rol oynadığı belirlenmiştir (Gondim ve ark. 2004a). Dubey ve ark. (2011) doğal enfekte gri kurtların (*Canis lupus*) dışkısında *N. caninum* ookistleri saptamış ve bu canlının da *N. caninum*'un sonkonağı olduğunu bildirmişlerdir.

Neospora caninum' un sınıflandırılması aşağıdaki gibidir (Systema Naturae 2000a).

Alan: Eukaryota

Üst Âlem: Corticata

Alem: Chromista

Altalem: Harosa

İnfraalem: Halvaria

Üst Şube: Alveolata

Şube: Miozoa

Altşube: Myzozoa

İnfraşube: Apicomplexa

Üst sınıf: Sporozoa

Sınıf: Coccidiomorpha

Altsınıf: Coccidia

Takım: Eimeriida

Aile: Sarcocystidae

Altaile: Toxoplasmatinae

Cins: Neospora

Tür: *Neospora caninum*

1.1.2. *Neospora caninum*'un Morfolojisi

Neospora caninum Apicomplexa anacında yer alan zorunlu hücre içi bir protozoondur (Yıldız ve Gökpinar 2017). Yaşam döngüsü üç enfeksiyöz aşamadan oluşmaktadır. Bunlar doku kistleri içerisindeki bradizoitler, takizoitler ve ookistler içerisinde bulunan sporozoitlerdir. Takizoitler ve bradizoitler arakonaklarda bulunmaktadır ve hücreiçi gelişmektedirler (Dubey ve ark. 2007).

Takizoitler; 3-7 x 1-5 µm arasında, yarım ay, küresel veya oval şekildedir (Dubey 2003). Takizoitler parazitin hızlı çoğalan formudur. Bu form konakların beyin, omurilik, kalp, iskelet kası, karaciğer, akciğer, dalak ve lenf düğümlerin, fibroblastlar, makrofajlar, böbrek tubulus epitelyum hücreleri gibi çeşitli organ ve doku hücrelerini enfekte edebilmektedir (Barr ve ark. 1990, Dubey ve ark. 2007).

Çoğunlukla yuvarlak ya da oval şekilde olan doku kistleri (Dubey ve ark. 2007), retina dâhil olmak üzere merkezi sinir sisteminde bulunmaktadır ve büyüklüğü 107 µm'ye kadar ulaşabilmektedir (Dubey 1999b). Son yıllarda *N. caninum* ile doğal enfekte köpek ve sığır kaslarında doku kisti örnekleri tespit edilmiştir (Dubey 2003). Doku kistleri ayrıca bir atın perifer sinirleri ile konjenital enfekte bir tayın göz kaslarında da belirlenmiştir (Dubey 1999b). *Neospora caninum* ile *T. gondii* doku kistlerinin duvar yapısı birbirinden farklıdır. *Neospora caninum* doku kistlerinin duvarı iki tabakadan oluşmakta ve 4 µm kalınlığındadır (Dubey ve ark. 2002). Parazitin yavaş çoğalan formu olan bradizoitler 7-8x2 µm büyüklüğünde ve kist

içinde hilal şeklinde dizilmiştir (Dubey 2003). Bu bradizoitler, mikropor içermemesiyle Apicomplexa kökünde bulunan diğer protozoonların bradizoitlerinden ayrılır (Jardine 1996).

Sonkonak dışkısı ile dışarı atılan *Neospora caninum* ookistleri 24 saat içinde konak dışında sporlanırlar. Ookistler oval bir şekle sahiptir ve her biri dört sporozoite (6.5x2µm) sahip iki sporokist içermektedir. *Neospora caninum*'un ookistleri 10.6-12.4x10.6-12.0 µm büyüklüğündedir (McAllister ve ark. 1998, Dubey 1999b, Dubey 2003, Dubey ve Schares 2011).

1.1.3. Biyolojik Gelişme

Neospora caninum'un biyolojik gelişmesi Apicomplexa kökünde bulunan diğer protozoonlara benzerlik gösterir (Şekil 1.1) (Dubey 1999b). Evcil köpek (*Canis familiaris*) (McAllister ve ark. 1998) kır kurdu (*C. latrans*) (Gondim ve ark. 2004a) ve gri kurtların (*C. lupus*) (Dubey ve ark. 2011) son konaklar oldukları belirlenmiştir. Arakonakları ise köpek dâhil birçok evcil ve yabani hayvanlar olup, doğal olarak sığır, koyun, keçi, geyik ve atlar da enfekte bulunmuştur (McAllister 1998, Dubey 1999a, Gondim 2006). Ayrıca kırmızı tilki, deve, kır kurdu, manda ve kedigillerde de *N. caninum*'a karşı antikor varlığı tespit edilirken (Lindsay ve ark. 1996, Gondim 2006), deneysel olarak tilki, domuz, rat, gerbil, fare ve maymunların da enfekte olabildikleri ortaya konulmuştur (Dubey 1999b).

Bulaşma, protozoonun takizoitlerini ya da bradizoitlerini içeren enfekte dokuların ağız yoluyla alınması, sporlanmış ookistlerle kontamine yiyecek ve içme suyunun alınması sonucu postnatal veya gebelik sırasında enfekte anneden yavruya transplasental olarak gerçekleşmektedir. Son zamanlarda, fetüsün transplasental enfeksiyonunun kaynağını daha net olarak tanımlamak için “eksojen transplasental nakil” ve “endojen transplasental nakil” terimleri kullanılmaya başlanmıştır. Eksojen transplasental nakil, annenin gebelik sırasında enfeksiyonu alması sonucu ortaya çıkan fetal enfeksiyonu tanımlarken, endojen transplasental nakil ise gebelikten önce

alınmış tekrarlayan maternal enfeksiyonun sonucunda ortaya çıkan fetal enfeksiyonu ifade etmektedir (Trees ve Williams 2005).

Transplasental nakil *Neospora caninum*'un temel bulaşma yolu olarak kabul edilmektedir (Dubey 2003). Birçok konakta doğal olarak meydana gelir ve takizoitler anneden fetüse geçtiğinde oluşur. Herbivor hayvanlarda doğum sonrası aktarım için tek yol ookistlerin alınmasıdır (Dubey ve ark. 2007).

Sporlanmamış ookistler bradizoit içeren doku kistlerinin oral yolla alınmasından 5 gün veya daha uzun bir süre sonra köpeklerin dışkı ile atılır. Sporozoitler ookistler dışarı atıldıktan sonra 24 saat içinde gelişir ve köpekler veya diğer ara konaklar tarafından sporlanmış ookistlerin yeniden alınmasıyla enfeksiyon başlar (Dubey ve ark. 2002, 2006, 2007, Cedillo ve ark. 2008).

Ara konakların bağırsaklarında serbest kalan sporozoitler, bağırsak mukozasından geçer ve mezenterial lenf yumrularına ulaşır. Buradan da kan ve lenf yoluyla diğer organlara yayılırlar (Georgieva ve ark. 2006). Organların çeşitli hücrelerinde endodiyogeni yoluyla hızlıca çoğalır ve çok sayıda takizoit meydana gelir. Enfekte hücreler parçalandıktan sonra, takizoitler yeni hücrelere girerek bradizoit formuna dönüşürler. Endodiyogeni yoluyla çoğalan bradizoitler doku kistlerini oluşturur. Bunlar genellikle arakonağın sinir dokularında, daha az olarak da kalp, iskelet kasları, karaciğer, böbrek ve plasentada da görülmektedir (Barr ve ark. 1990, McAllister ve ark. 1998, Wouda 2000).

Parazitin gelişmesinde sporlanmamış ookistler sonkonakların dışkı ile dışarı atılmaktadır ve dış ortamda sporlanan ookistler ara konaklar tarafından gıda ve sularla alınabilmektedirler. Sığırlar enfeksiyonu gebelik dönemlerinde takizoitleri transplasental olarak yavruya nakledebilmektedirler. Enfekte ara konaktaki doku kistleri son konaklar tarafından alınarak yaşam döngüsü tamamlanmaktadır (Aydın 2013) (Şekil 1.1.)

1.1.4.1. Türkiye’de Sığırlarda *Neospora caninum*’un Yayılışı

Türkiye’de neosporosis üzerine genellikle serolojik ve moleküler düzeyde çalışmaların yapıldığı görülmektedir. Serolojik araştırmalarda ülkemiz sığırlarında Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile %2-37.7 oranlarında seropozitivite yakalanmış ve özellikle abort vakalarında pozitiflik yüksek bulunmuştur (Akca ve ark. 2005, Aktaş ve ark. 2005, İça ve ark. 2006, Kul ve ark. 2009, Yıldız ve ark. 2009) (Çizelge 1.1.)

Çizelge 1.1. Türkiye’de sığırlarda *N. caninum*’un seroprevalansı

Bölge	Şehir	Kullanılan Test	Pozitiflik Oran (%)	Kaynak
Akdeniz	Burdur	cELISA	5.3	Adanır ve ark. 2015
	Adana	cELISA	10.7	Eşki ve Ütük 2018
	Bingöl	cELISA	4.69	Aktaş ve ark. 2005
	Elazığ	cELISA	8.19-15	Aktaş ve ark. 2005 Şimşek ve ark. 2008
Doğu Anadolu Bölgesi	Malatya	cELISA	4	Aktaş ve ark. 2005
	Muş	cELISA	4.86	Aktaş ve ark. 2005
	Kars	cELISA	2-7.2	Akça ve Gökçe 2003 Akca ve ark. 2005 Mor ve ark. 2011 Mor ve Akça 2012
	Van	cELISA	4.88	Alan ve ark. 2011
	Erzurum	cELISA	10.65	Balkaya ve ark. 2012
Ege Bölgesi	Afyonkarahisar	cELISA	21.03	Çelik ve ark. 2013
Güneydoğu Anadolu Bölgesi	Şanlıurfa	cELISA	7.5	Sevgili ve ark. 2005
	Kayseri	cELISA	7	İça ve ark. 2006
İç Anadolu Bölgesi		ELISA	10.82	Vural ve ark. 2006
	Ankara	ELISA	10.15	Vural ve ark. 2006
		Immunocomb	10	Kurtdede ve ark. 2006
	Eskişehir	ELISA	5.43	Vural ve ark. 2006
	Çankırı	ELISA	6.93	Vural ve ark. 2006
	Kırıkkale	ELISA	32.72	Vural ve ark. 2006
		cELISA	5.5	Yıldız ve Gökpinar 2017
	Kırşehir	ELISA	19.55	Vural ve ark. 2006
		cELISA	18.1	Yıldız ve ark. 2017
	Yozgat	ELISA	20.32	Vural ve ark. 2006

	Nevşehir	ELISA	5.10	Vural ve ark. 2006
	Aksaray	ELISA	34.9	Öcal ve ark. 2014
	Niğde	cELISA	26.51	Karatepe ve Karatepe 2016
Karadeniz Bölgesi	Samsun	cELISA	22.7	Kaya ve ark. 2011
	Sakarya	cELISA	9.2	Öncel ve ark. 2003
Marmara Bölgesi	Kırklareli	ELISA	10	Bıyıkoğlu ve ark. 2003
	Tekirdağ	ELISA	5.6	Bıyıkoğlu ve ark. 2003
	Bursa	cELISA	19.23	Eşki ve ark. 2016

Türkiye’de sığırlarda *N. caninum*’la ilgili moleküler düzeyde de çalışmalar yapılmıştır. Sığır beyin dokusunda Nested-PCR ile seropozitif sığırlarda %18.1 oranında *N. caninum* DNA’sı saptanmıştır (Yıldız ve Gökpınar 2017). Orta Karadeniz Bölgesinde ve Sivas’da aborte sığır fetüslerinde Real-Time PCR ile %48.8 oranında *N. caninum* belirlenmiştir (Açııcı ve ark. 2015). Özkaraca ve ark. (2017) duplex PCR yöntemini kullanarak sığır aborte fetüslerinde %25.49 *N. caninum* pozitifliği saptadıklarını bildirmişlerdir.

1.1.4.2. Dünyada’ki Sığırlarda *Neospora caninum*’un Yayılışı

Sığır neosporosis’i Brezilya, İsrail, Polonya, Slovakya, İspanya, ABD, Polonya, Almanya, Portekiz, Cezayir, Arjantin, Mısır, Estonya, Yunanistan, İran, Meksika, Norveç, Pakistan, Peru, Çin, Filipinler, Romanya, Japonya, İsveç, Tayland, İngiltere ve Vietnam’da bulunduğu bildirilmiştir (Dubey ve Lindsay 1996, Dubey 2003, Dubey ve Schares 2011). Sığırlarda yapılan serolojik çalışmalarda ise, Afrika’da %4-20, Asya’da %6-44, Avrupa’da %1-60 oranlarında pozitif sonuçlar alınmıştır (Armengol ve ark. 2007). Dünya genelinde serolojik çalışmalarda ELISA ve İndirekt Flouresan antikor testleri (IFAT) kullanılmıştır (Çizelge 1.2.)

Çizelge 1.2. Dünyada sığırlarda *N. caninum*'un seroprevalansı

Bölge	Ülke	Kullanılan Test	Pozitiflik Oranı (%)	Kaynak
Avrupa	İspanya	ELISA	17.9	Quintanilla-Gozalo ve ark. 1999
	Romanya	ELISA	34.6	Gavrea ve ark. 2011
		ELISA	40.3	Mitrea ve ark. 2012
		ELISA	27.7	Imre ve ark. 2012
	Polonya	ELISA	15.6	Cabaj ve ark. 2000
		cELISA	20.1	Kovalczyk ve ark. 2016
	Portekiz	ELISA	49	Thompson ve ark. 2001
	Sırbistan	ELISA	25	Cvetojevic ve ark. 2018
		IFAT	17.3	Savovic ve ark. 2012
Galler ve İngiltere	ELISA	12.5	Davison ve ark. 1999	
Çek Cumhuriyeti	c-ELISA	0.5	Bartova ve ark. 2015	
Amerika	Arjantin	IFAT	88.8	Campero ve ark. 1998
	Brezilya	IFAT	14.09	Gondim ve ark. 1999
		IFAT	12.27	Melo ve ark. 2017
	Meksika	ELISA	59	Garcia-Vazquez ve ark. 2002
		ELISA	11.9	Rabago-Castro ve ark. 2017
	Kanada	ELISA	9	Waldner ve ark. 2001
	Kolombiya	cELISA	76.9	Dario Cedeno ve Bibiana Benavides 2013
ELISA		63	Vargas-Nino ve ark. 2018	
Avustralya	Güney Avustralya	ELISA	2.5	Nasir ve ark. 2012
	Asya	İran	ELISA	10.5
ELISA			12.8	Gharekhani ve ark. 2014
ELISA		32	Youssefi ve ark. 2009	
cELISA		12.6	Nourollahi Fard ve ark. 2008	
ELISA		26.33	Hosseininejad ve ark. 2017	
Kore	IFAT	4.1	Kim ve ark. 2002	
Çin	ELISA	7.6	Luo ve ark. 2018	
Vietnam	ELISA	5.5	Huong ve ark. 1998	

	Hindistan	cELISA	8.2	Meenakshive ark. 2007
		cELISA	12.61	Sengupta ve ark. 2013
	Tayland	ELISA	46.9	Inpankaew ve ark. 2014
		IFAT	34.3	
	Pakistan	cELISA	43	Nazir ve ark. 2013
Afrika	Nijerya	ELISA	3.4	Ayinmode ve ark. 2017
	Morocco	iELISA	8.52	Lucchese ve ark. 2016
	Mısır	iELISA	18.9	Fereig ve ark. 2016
	Cezayir	IFAT	19.64	Ghalmi ve ark. 2012
	Nepal	ELISA	4.84	Yadav ve ark. 2016
	Sudan	cELISA	10.7	Ibrahim ve ark. 2012
		cELISA	15.9	Hussien ve ark. 2012
	Etiyopya	cELISA	13.3	Asmare ve ark. 2013

1.1.5. Patogenez ve Klinik Belirtiler

Patolojik bulgular aynı zamanda teşhiste yararlanılan önemli verilerdir (Dubey ve ark. 2006). Neosporosis ile ilgili patolojik bulgular anneden ziyade atık fetüs ve neonatal zayıf doğmuş buzağılarda görülmektedir (Dubey ve ark. 1990).

Önceden enfekte olmuş bir ineğin beyin dokusunda bulunan ankiste kistler, gebelik sırasında meydana gelen hormonal değişiklikler, beslenme, stres, mikotoksin veya tekrar eden hastalıklar nedeniyle bağışıklığın zayıflaması sonucu aktif hale geçebilmektedir. Bunu takiben kist içindeki bradizoitler hızlı bir şekilde bölünebilmekte, kan dolaşımına geçebilmektedir. Bunun sonucunda fetüs transplasental olarak enfekte olarak ya aborta ya da konjenital enfekte buzağı doğumu şekillenmektedir (Anderson ve ark. 2000, Toolan 2003).

Enfekte fetüsler, sık sık otoliz ve mumifiye olmakla birlikte makro-patolojik lezyonlar nadirdir. Lezyonlar kalp, iskelet kası ve beyinde bulunabilir. Fetüsün kalp ve iskelet kasında soluk beyaz renkli odaklar ile beyinde çok küçük gri renkli odaklar görülebilir. Rengi bozulmuş fokal alanlar plasental kotiledonlarda bulunabilir (Dubey ve ark. 2002). Abortlu fetüslerde mikroskopik lezyonlar ise çoğunlukla beyin, medulla spinalis ve kalpte görülür. Bunların yanı sıra karaciğer, akciğer, iskelet

kasları ve böbreklerde de lezyonlara rastlanılabilir. Kalp genişlemiş, karkas ödemlidir (Barr ve ark. 1990, Anderson ve ark. 1991, Reichel 2000b).

Sinir sisteminde lezyonlar hem medulla spinalisde hem de beyinde bulunmaktadır. Neosporosis enfeksiyonunun bazen hidrosefalus ve medulla spinaliste daralma gibi doğum anomalilerine de sebep olabildiği tespit edilmiştir (Dubey 2003, Moore 2005, Dubey ve ark. 2006). Miyokardiyal lezyonlar ciddidir, fakat otoliz sonucu maskelenir. Miyokardiyal lezyonlar tipik olarak, minimal nekrozisle fokal mononükleer hücre infiltrasyonundan oluşur. Hepatik lezyonlar, hepatosellüler nekrozis ile birlikte intrasinusoidal fibrin ve trombinin değişken odak ve mononükleer hücrelerin periportal infiltrasyonundan oluşmaktadır. Periportal hepatitis ve multifokal hepatosellüler nekrozis endemik abortlara oranla epidemik abortlarda daha şiddetlidir (Barr ve ark. 1990, Dubey ve ark. 1990, Wouda ve ark. 1997). Abort olmuş fetüse ait plasenta kotiledonlarında *N. caninum* ile ilgili fokal nekrosis ve nonsuppuratif inflamasyonlar görülmüş, yalnız nekrotik odaklarda protozoona ait kistlere rastlanmamıştır (Lindsay ve Dubey 1989, Tuzcu ve Çiftçi 2000).

Abort sığırlarda hastalıkta görülen en yaygın klinik semptomdur. Abortlar gebeliğin 3. ayından itibaren görülmekle birlikte; en çok 5-7. aylarda meydana gelir (Anderson ve ark. 2000, Ghanem ve ark. 2009, Almeria ve Lopez-Gatius 2013). Ölen fetüslerde rezorbsiyon ve mumifikasyon şekillenirken, canlı doğan yavrularda ise klinik semptomlu veya semptomsuz kronik enfekte doğumlar ile de karşılaşılmaktadır (Dubey ve ark. 2006, Anderson ve ark. 2000).

Gebeliğin erken döneminde olan enfeksiyon, immun sistemin yeterli gelişmemesi nedeniyle fetüs için sonraki zamanlara göre çok daha öldürücü özelliktedir. Yavru gebeliğin son 3 aylık döneminde patojene karşı savunma yapabilecek düzeye ulaşmakta ve bunun sonucunda hayatta kalmaktadır. Fakat enfeksiyonun anneden yavruya geçişi de erken gebeliğe göre ileri gebelikte daha çok görülmektedir (Kritzner ve ark. 2002, Haerdi ve ark. 2006, Innes 2007, Gibney ve ark. 2008, Redigor-Cerrillo ve ark. 2014). Süt sığırları için esas tehlike; enfeksiyona bağlı olarak gelişen abortlardan daha ziyade parazitin gebelik döneminde anneden yavruya

geçmesi ve sağlıklı görünen fakat paraziti taşıyan buzağların doğumudur (Dubey ve Schares 2006, Kul ve ark. 2009).

Neospora caninum enfeksiyonunun ilginç özelliklerden birisi de; sonraki gebeliklerde risk azalma gösterse de, etkenin tekrarlayan abortlara sebep olabilemesidir (Dubey ve Schares 2006, Cardoso ve ark. 2012). Bu durum ineklerin bir derecede koruyucu immun yanıt oluşturduğunu düşündürmekte ve yapılan çalışmalarda, eksojen enfeksiyona karşı koruyucu immunitenin geliştiği, ancak transplasental bulaşmaya karşı koruyucu yanıtın oluşmadığı belirlenmiştir (Innes ve ark. 2002, Williams ve ark. 2003, Goodswen ve ark. 2013).

Neospora caninum ile enfekte ergin ineklerde abort dışında tek bildirilen fiziksel bulgu etçi ırklarda görülen kilo kaybıdır (Kritzner ve ark. 2002). Konjenital enfekte buzağlar ise düşük doğum ağırlığına sahip olup sinirsel semptomlar göstermektedirler. Ön ve arka ekstremitelerde fleksiyon ya da hiperekstensiyon, patellar reflekste azalma, ataksi, gözlerde ekzoftalmi ya da asimetrik görünüş, skolyoz, hidrosefalus ve spinal kordta daralma başlıca semptomlardır (Dubey ve ark. 2007, Dubey ve Schares 2011, Canatan ve ark. 2014). Ekstremitelerde olan hiperekstensiyondan dolayı ayağa kalkmada güçlük veya anneyi emmede zorluk görülmektedir (Innes 2007).

Köpeklerde *N. caninum* hem annede hem de yavrularında görülmekte ve erişkinlerde genellikle semptom oluşturmamaktadır. Konjenital olarak enfekte yavru köpeklerde ise neosporosis çok şiddetli seyretmektedir (Dubey 2003). Özellikle genç köpeklerde enfeksiyon lokal seyirli olup, en belirgin klinik belirtiler arka bacaklarda paraliz ve bunu takiben ilerleyen bir felç tablosu, omurilik anomalileri, boyun ağrıları ve disfaji tablosudur (Dubey ve ark. 1998, Reichel 2000). Meydana gelen sinirsel belirtiler parazitin enfekte ettiği bölgeye bağlıdır. Enfeksiyonda arka bacaklar ön bacaklara oranla daha fazla etkilenmekte ve aşırı deformasyon şekillenmektedir. Bu hayvanlarda yutmada güçlük, gırtlakta paraliz, kas gevşemesi veya atrofisi ve kalp yetmezliği de gözlenir (Jacobson ve Jardine 1993, Barber ve Trees 1996, Dubey 1999b, Kramer ve ark. 2000, Dubey ve ark. 2002)

Arka bacaklarında felç şekillenen köpeklerin aylarca hayatta kaldıkları bildirilmiştir. Hastalık taşıyan bazı yavru ve erişkin köpeklerde MSS’de multifokal yangılar, polimiyozitis, miyocarditis, hepatitis, pneumoni ve şiddetli dermatitis görülmektedir. Her yaştan köpek hastalıktan etkilenebilmektedir. Parazit subklinik enfekte dişi köpekler tarafından fetüslerine nakledebilmekte ve aynı anneden doğan yavruların tümü enfekte doğabilmektedir (Dubey 2003, Dumanlı ve Aktaş 2010).

1.1.6. Teşhis

Neospora caninum enfeksiyonlarının teşhisinde, klinik belirtiler ile birlikte patolojik bulgulardan da faydalanılmaktadır. Neosporiosis’de klinik belirtiler birçok hastalıkla benzer olduğu için çoğunlukla hastalığı, teşhis için tek başına yeterli değildir. Bu nedenle klinik belirtilere bakılarak kesin tanıya gitmek genellikle olanaksızdır. Abort, MSS bozuklukları ve ensefalomyelitis gibi klinik belirtiler neosporiosisi akla getirir de kesin tanı için diğer laboratuvar tanı yöntemlerinin de uygulanması gerekmektedir. Bu yöntemler immunohistokimyasal yöntemler (IHC) transmission elektron mikroskopik yöntem, serolojik testler ve moleküler biyolojik yöntemlerdir (Hemphill 1999, Dubey ve Schares 2006, Zhai ve ark. 2007).

Otoliz başlamış organlarda immuno-histokimyasal yöntemlerin kullanılması, teşhis için daha güvenilir sonuçlar vermektedir. Neosporiosis’de en belirgin lezyon nekroz ve nonsupuratif infiltrasyon ile karakterize fokal ensefalit olarak bilinmektedir. Moleküler tabanlı tekniklere dayalı (PCR) teşhiste, laboratuvar şartları ile birlikte otolizin başlama zamanı ve süresi de önemli görülmektedir. Atık fetüslerin beyin dokusundan elde edilen parazit DNA’sı ile moleküler teşhisi ve karakterizasyonu yapılabilmektedir (Dubey ve Schares 2011).

Rutin ışık mikroskobu ile etkenin belirlenmesi için, beyin-omurilik sıvısı, kemik iliği aspiratı veya vücut ısısının yüksek ölçüldüğü durumlarda perifer kandan, direk kan yayma preparatları hazırlanabilmektedir. Bu preparatların Wright, Giemsa veya PAS

boyama yöntemleri ile boyanması ve preparatların mikroskopik incelenmesi ile etkenin saptanması mümkün olabilmektedir (Aydın 2013).

Serolojik olarak *N. caninum* antikorların belirlenmesinde, ELISA, IFAT, Neospora Agglunitasyon Testi (NAT) testleri kullanılmaktadır. ELISA ve IFAT neosporosisin serolojik teşhisinde sıklıkla kullanılan testlerdir (Björkman ve Uggla 1999). Serolojik testlerde, kan serumunda *N. caninum* spesifik antikorların belirlenmesi hayvanın sadece parazite maruz kaldığını gösterir. Ancak yeni doğan hayvanların prekolostral serumundan ve aborte fetüsten alınan periton ve perikard sıvıları ile serebrospinal sıvılardan elde edilen sonuçlar, transplasental neosporosisi tanımlar (Williams ve ark. 1997, Osawa ve ark. 1998, Dubey 2003, Dubey ve Schares 2006). Serolojik tanı kronik olarak enfekte hayvanlarda yetersizdir. Neosporosisin kesin teşhisi için fetüsün muayenesi gereklidir. Fetüsün tümünü incelemek mümkün olmadığında, tanı için en uygun örnekler kan serumu, serobrospinal, perikardiyal sıvılar gibi vücut sıvıları, beyin, kalp, karaciğer ve plasentadır. *Neospora caninum* enfeksiyonundan en çok etkilenen organ beyin olmakla birlikte diğer bazı organlarda da lezyonlar görülebilmektedir. Atık fetüste en karakteristik bulgu fokal ensefalomyelitistir. Neosporosisin gözle görülebilen patognomik lezyonları mevcut değildir (Dubey 1999b, Dumanlı ve Aktaş 2010, Kul 2012).

1.1.7. Tedavi, Koruma ve Kontrol

Neosporosis'e karşı etkin bir tedavi yöntemi bulunmamakla birlikte tedavi amacıyla primethamine, sulfadiazine ve klindamisin gibi ilaçlar birlikte veya ayrı ayrı kullanılabilir. İn vitro ve in vivo deneysel çalışmalarda; toltrazuril, ponazuril (Kritzner ve ark. 2002, Strobusch ve ark. 2009), monensin (Vanleeuwen ve ark. 2011), artemisone (Mazuz ve ark. 2012), sülfonamidler, trimetoprim-sülfodiazin ve toltrazuril kombinasyonu (Cuterive ark. 2005), anti-folatlar ve antibiyotikler (Lindsay ve ark. 1994) gibi parazitin bazı yaşam dönemlerinde etkili olan ilaçlar kullanılmıştır.

Decoquinate'nin takizoitleri öldürdüğü laboratuvar çalışmalarıyla ortaya konmuştur (Dumanlı ve Aktaş 2010, Aydın 2013). Sülfonamid türevlerinin hücre kültüründeki *N. caninum* takizoitleri üzerinde öldürücü etkisi olduğu belirlenmiştir (Kul 2012). Toltrazuril tedavisi deneysel olarak enfeksiyonun akut döneminde uygulandığında buzağılarda başarılı olmuştur (Kritzner ve ark. 2002). Bununla birlikte seropozitif sığırlara toltrazuril ve sülfonamid verilmesinin, bir sonraki sene neosporosis kaynaklı abort oranını azalttığını bildirilmiştir (Cuteri ve ark. 2005). Kanada'da yapılan bir çalışmada monensin uygulanan ineklerde *N. caninum*'un seropozitiflik riskinin azaldığı belirlenmiştir (Vanleeuwen ve ark. 2010a).

Neosporosis'e karşı ticari bir aşı günümüzde bulunmamaktadır. Fare modelleme ile ölü ve rekombinant *N. caninum* aşısı test edilmektedir (Aguado-Martinez ve ark. 2009, Rojo-Montejo ve ark. 2011). Noninfeksiyöz aşı çalışmaları canlı takizoitlerle ekzojen aşı denemelerinde sığırlarda fetal ölümlerinden korunmak için birinci aşamayı oluşturmaktadır (Innes ve ark. 2007, Rojo-Montejo 2011, Moore ve ark. 2011).

Günümüzde inekler için etkili bir tedavi bulunmamakta, neosporosisten korunma daha fazla önem kazanmaktadır. Korunma ve kontrol yöntemleri sürü içindeki konjenital enfekte hayvanların sayısının azaltılmasına ve çevresel postnatal bulaşmaya sebebiyet veren durumları azaltmaya odaklanmaktadır (Anderson ve ark. 2000). *Neospora caninum*'un ari olduğu sürülerde kontrol programları sürüye enfeksiyonun girmesini önlemek adına biyogüvenlik önlemlerine yoğunlaşırken, enfekte sürülerde ise vertikal bulaşmanın ya da horizontal bulaşma riskinin azaltılmasına dayanmaktadır. Sürü içerisine alınacak hayvanları enfeksiyondan arı, reproduktif özellikleri iyi olan sürülerden almak ve bunların da serolojik testlerini yapmak önemlidir (Dubey ve ark. 2007). Köpek veya diğer son konak dışkıları ile hayvan yemleri, içme suları ve çayırların kontaminasyonu önlenmelidir (Anderson ve ark. 2000, Dubey ve ark. 2007). Köpekler ve diğer son konakların aborte fetal dokular, plasenta gibi enfekte ara konak dokularına ulaşması engellenmelidir (Dubey ve ark. 2007, Cavalcante ve ark. 2011, Almeria ve Lopez-Gatius 2013, Reichel ve ark. 2014).

Konjenital enfekte hayvanlarda hastalığın nüksetmesine sebep olabilen küflü saman ile beslenme önlenmeli, diyet dengesizliği ve stres gibi immunitede değişime neden olabilecek faktörlerden ve konkomitant enfeksiyonlardan kaçınmak gerekmektedir (Dubey ve ark. 2007, Vanleeuwen ve ark. 2010b, Reichel ve ark. 2014). Kolostrum antikorumları nedeniyle 6 aylıktan küçük buzağular hariç yıllık sürü taraması yapılması, iki ve daha fazla abort yapan pozitif hayvanların da sürüden çıkartılması önerilmektedir (Almeria ve Lopez-Gatius 2013). Çiftlik düzeyinde *N. caninum*'un ve abortun kontrolünde farklı stratejiler bulunmaktadır. Bu stratejiler; hiç bir şey yapmayarak sorunu göz ardı etme, test yapıp pozitifleri kesime yollama (Test–cull tekniği), antiparaziter koksidiostatik ilaçlar (toltrazuril) kullanımı ve aşılama (Goodswen ve ark. 2013). Enfekte inekler sürü içerisindeki diğer inekler için rezervuar olarak düşünülmektedir. Bu nedenle enfekte inek veya yavrularını sürüden çıkarmak gerekebilmektedir (Landmann ve ark. 2002, Dubey ve ark. 2007, Reichel ve Ellis 2009).

1.2. *Besnoitia besnoiti*

1.2.1. *Besnoitia besnoiti*'nin Tarihçesi ve Sistematikteki Yeri

Sığır besnoitiosis ile ilgili ilk rapor 1884 yılında Cadeac tarafından elephantiasis adı verilen sığır deri hastalığı olarak tanımlandığında yayınlanmıştır (Cadeac 1884). Daha sonra yapılan çalışmalarda Besnoit ve Robin (1912) Pyrenees'te etkilenen sığırlarda deri ve derialtı bağ dokularında sayısız spor barındıran çok sayıda kalın duvarlı küresel kistin varlığını ortaya koymuştur. Bu araştırmacılar hastalık etkenini geçici olarak *Sarcocystis* spp. olarak tanımlamışlardır. Marotel (1912) daha önce sığırlarda benzer birşeyin bulunmadığını ve araştırmacıların adının bu harika keşifle bağlantılı olmayı hak ettiğini açıkladı. Bu yüzden cins adının *Besnoitia* olmasını önermiş ve neden olan etken için *Besnoitia besnoiti* kombinasyonunu kullanmıştır (Pols 1960). Franco ve Borges (1916) hastalığı ayrıntılı olarak açıklamış son 30 yıldır (1885'den beri) Lizbon'da

mezbahada kesimi yapılan sığırlarda sıklıkla karşılaştığını bildirilmişlerdir. Bu araştırmacılar cins ismini *Besnoitia* ve etkenin adının *Besnoitia besnoiti* olmasını önermişlerdir ve bu etkenin oluşturduğu hastalığın adı besnoitiosis olarak tanımlanmıştır.

Besnoitia besnoiti 'nin sınıflandırılması aşağıdaki gibidir (Systema Naturae 2000b).

Alan: Eukaryota

Üst Âlem: Corticata

Alem: Chromista

Altalem: Harosa

İnfraalem: Halvaria

Üst Şube: Alveolata

Şube: Miozoa

Altşube: Myzozoa

İnfraşube: Apicomplexa

Üst sınıf: Sporozoa

Sınıf: Coccidiomorpha

Altsınıf: Coccidia

Takım: Eimeriida

Aile: Sarcocystidae

Altaile: Toxoplasmatinae

Cins: *Besnoitia*

Tür: *Besnoitia besnoiti*

1.2.2. *Besnoitia besnoiti*'nin Morfoloji

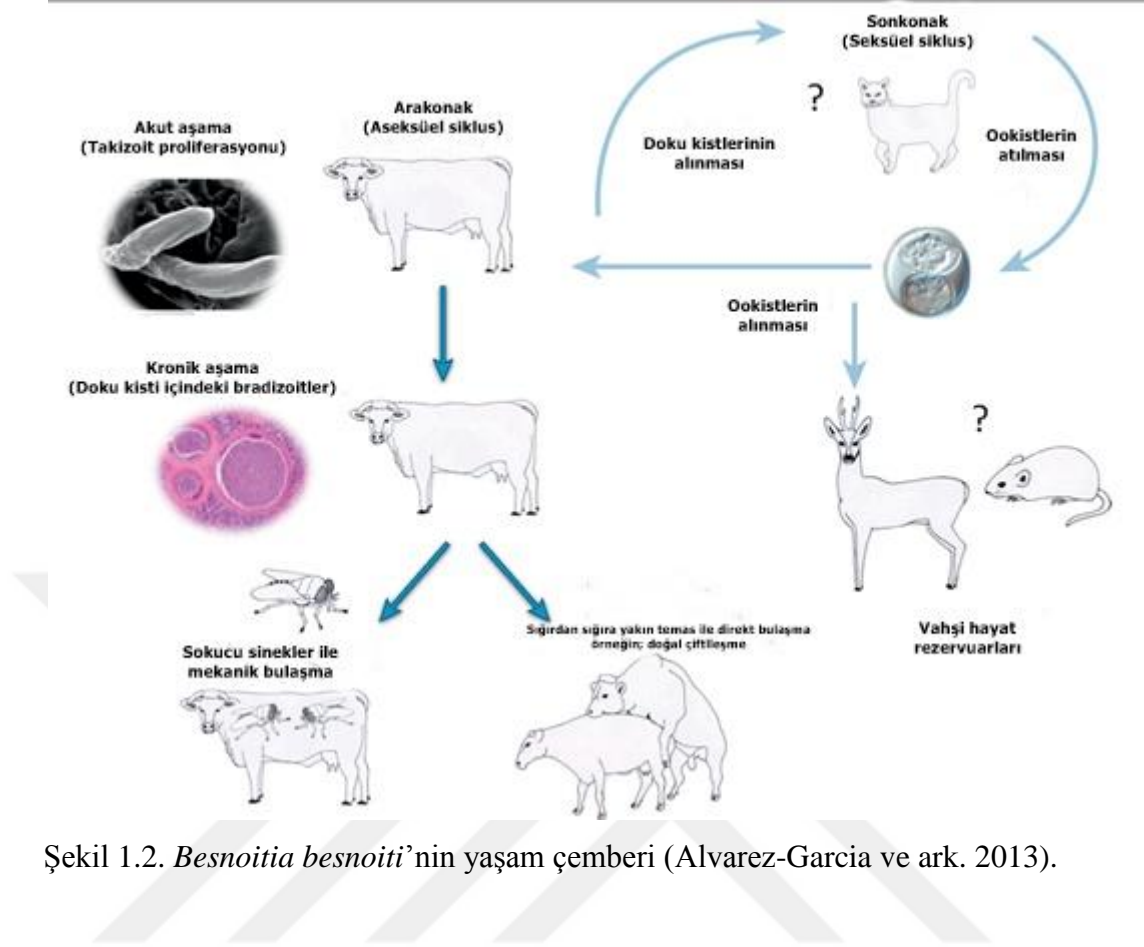
Sığır besnoitiosis kist oluşturan Apicomplexan parazit *B. besnoiti*'den kaynaklanmaktadır ve yaşam döngüsünde tüm sığır ırkları ara konak görevi görmektedir. *Besnoitia* türleri, Apicomplexa altşubesinin, Sarcocystidae ailesi Toxoplasmatinae alt ailesinde sınıflandırılır. *Besnoitia* cinsine bağlı 9 tür tanımlanmıştır. Bunlar *B. besnoiti*, *B. benetti*, *B. jellisoni*, *B. wallacei*, *B. tarandii*, *B. darling*, *B. caprae*, *B. akadoni* ve *B. oryctofelis*). Bu türlerden sadece *B. darling*, *B. wallacei*, *B. oryctofelis*'in yaşam döngüsü bilinmektedir (Dubey ve ark. 2003, EFSA 2010, Olias ve ark. 2011).

Akut hastalıktan sorumlu profileratif aşama olan takizoitler 6-7.5x2.5-3.9 µm büyüklüktedir (Reis ve ark. 2006). *Besnoitia besnoiti* takizoitleri ışık mikroskopik muayenede *Neospora* ve *Toxoplasma* takizoitlerinden ayıramaz. Transmission elektron mikroskobu ile Apicomplexan parazitlerin ayırt edici özellikleri açıkça görülür. Doku kistleri çoğunlukla gözle görülebilmekte ve yuvarlak şekilli olup, 3 mm çapına kadar ulaşabilmektedirler. Bu kistler iki ayrı kist duvarı ile karakterize edilmektedir. İç kist duvarı *T. gondii* ve *N. caninum* doku kistlerine benzer, çok çekirdekli konak hücresinin içerisinde hücre içi olarak yerleşmiş, parazitofor vakuol zarı ile çevrilmiş olup, muhtemelen parazit tarafından sentezlenmiştir. İkinci kist duvarı tüm konak hücreyi çevreler ve 10-12 µm kalınlıktadır (Dubey ve ark. 2003, Cortes ve ark. 2006b). Dış kist duvarı kollajen yapıdan oluşur (Ayroud ve ark. 1995) ve konak parçası üzerinde fizyolojik bir reaksiyonun ürünü gibi görülür (Dubey ve ark. 2013). Bu çift katmanlı kist duvarı *B. besnoiti*'yi diğer Apicomplexalardan açıkça ayırır (Cortes ve ark. 2014). Kist duvarının içinde çok sayıda hiperplastik ve hipertrofik konak hücre çekirdeğinin bulunması, diğer doku kistleri ile kıyaslandığında karakteristik görünümündedir. Bir doku kistinin içinde binlerce sayıda bradizoit bulunmakta olup, bradizoitlerin 6.0-7.5x1-2.3µm büyüklüğündedir (Dubey ve ark. 2003, Frenkel ve Smith 2003, Mehlhorn ve ark. 2009, Rostaher ve ark. 2010, Olias ve ark. 2011).

1.2.3. Biyolojik Gelişme

Besnoitia besnoiti'nin heteroksen hayat siklusuna sahip olduğu düşünülmektedir. Evcil ve yabani sığırlar *B. besnoiti*'nin hayat siklusunda ara konak ödevi görmektedirler (Mehlhorn ve ark. 2009, Rostaher ve ark. 2010, Olias ve ark. 2011). Son yıllarda kızıl geyik ve karacaların *B. besnoiti* enfeksiyonlarında arakonak olarak davranabileceği gösterilmiştir (Gutierrez-Exposito ve ark. 2016, Arnal ve ark. 2017). Diğer *Besnoitia* türleri için kedilerin kesin konak olduğu ileri sürülse de *B. besnoiti*'nin kesin konağı belirlenememiştir (Mehlhorn ve ark. 2009, Rostaher ve ark. 2010, Olias ve ark. 2011).

Bu parazitin sığırlarda gelişen ve endodyogeni yoluyla çoğalan iki aseksüel enfektif formu bulunmaktadır. İlki hızla çoğalma yeteneğine sahip takizoitler olup, ikincisi yavaş bölünen bradizoitler olarak bilinmektedirler. Kan damarlarının endotel hücrelerinde takizoitler, bradizoitler ise subkutan bağ doku içerisinde yerleşim gösteren kistlerde endodiyojeni ile çoğalmaktadır. Büyüklükleri 600 µm'ye çıkabilen kistler kalın duvarlıdır. Bundan dolayı çıplak gözle görülebilmektedirler. Her bir kistin içerisinde bulunan bradizoit sayısı 200.000 kadar ulaşabilmektedir (Mehlhorn ve ark. 2009, Rostaher ve ark. 2010, Olias ve ark. 2011) (Şekil 1.2.).



Şekil 1.2. *Besnoitia besnoiti*'nin yaşam çemberi (Alvarez-Garcia ve ark. 2013).

1.2.4. *Besnoitia besnoiti*'nin Epidemiyolojisi

Hastalığın epidemiyolojisi ile ilgili bilgiler; enfeksiyonun prevalansı, hastalıkla ilgili risk faktörleri ve bulaşma yollarını kapsamaktadır (EFSA 2010).

Horizontal bulaşma hastalığın prevalansı ve hastaların yaşları arasındaki ilişki göz önüne alındığında enfeksiyonun ana bulaşma yoludur (Bigalke 1981, Fernandez-Garcia ve ark. 2010).

Deri altı doku kistleri çok yüzeysel olarak yerleşebileceğinden, horizontal bulaşmanın yaralar veya laserasyona sahip hayvanlar arasında doğrudan temas sonucu ortaya çıkması muhtemeldir. Bulaşmanın doğal aşım yapılan sürülerdeki enfekte boğalar vasıtasıyla da olabileceği düşünülmektedir (Castillo ve ark. 2009). Bunun yanında enfeksiyonun hayvanlar arasındaki yakın temas veya yanlış tıbbi müdahale (örneğin hipodermik iğnelerin tekrar tekrar kullanılması gibi) ile

bulaşabileceği de ifade edilmektedir (Basso ve ark. 2011, Alvarez-Garcia ve ark. 2013).

Hayvan ticareti ve ülkeler arası hareket, saf bölge ve ülkelerde yeni sığır besnoitiosis odaklarının kurulmasında önemli risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (Alvarez-Garcia ve ark. 2013, Gazzonis ve ark. 2014). Kan emen sokucu sinekler hastalığın hızla yayılmasında önemli risk faktörlerindedir. *B. besnoiti*'nin *Stomoxys* cinsi sinekler vasıtasıyla mekanik yolla taşındığı kanıtlanmıştır (Lienard ve ark 2013). Mevsim hastalığın risk faktörleri kapsamında ön plana çıkmaktadır. Klinik bulgular yaz mevsiminde sürülerin otlakları ortak kullanmaya başlamaları ile ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle hastalığın mekanik olarak naklinde *Tabanus*, *Glossina*, *Stomoxys* cinsi ait sineklerin önemli rol oynayabilecekleri ileri sürülmektedir (Sevinç 2013).

1.2.4.1. Türkiye’de Sığırlarda *Besnoitia besnoiti*’nin Yayılışı

Türkiye’de *B. besnoiti*’nin belirlendiği iki çalışma mevcuttur. Ocal ve ark. (2016) Kırıkkale’deki hayvanlarda seroprevalansı %26.6 olarak belirlemişlerdir Özdal ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada Muş, Van, Siirt ve Diyarbakır’daki sığırlarda sırasıyla %0, %1.1, %3.7 ve %3.4 *B. besnoiti* seropozitifliği saptamışlardır.

1.2.4.2. Dünyadaki Sığırlarda *Besnoitia besnoiti*’nin Yayılışı

Sığırlarda besnoitiosis Sahra Altı Afrika ülkeleri (Güney Afrika, Swaziland, Botswana, Namibia, Zimbabwe, Angola, Kongo, Kenya, Tanzania, Uganda, Sudan, Kamerun ve Nijerya), Asya (İsrail, Rusya ve Güney Kore) ile Batı ve Orta Avrupa’da görülmektedir (Çizelge 1.3.). Avrupa ülkelerinde hastalık 1990’lardan sonra dikkat çekmeye başlamıştır. Epidemiyolojik veriler, hastalığın coğrafi dağılımının genişlediğini ve prevalansının arttığını göstermektedir. Son yıllarda

yapılan çalışmalarla, hastalığın Avrupa’da Pirene Dağları boyunca sıralanan alanlarda, İspanya, Fransa, İtalya, Portekiz ve Almanya’da çok sayıda şiddetli salgınlar şeklinde seyrettiği bildirilmektedir (Cortes ve ark. 2005, Cortes ve ark. 2006a,b, Castillo ve ark. 2009, Mehlhorn ve ark. 2009, Schares ve ark. 2009, Aguado-Martinez 2010, Fernandez-Garcia ve ark. 2010, Manuali ve ark. 2011). Sığır besnoitiosisi yönünden endemik olmayan Belçika’da ilk klinik vaka ithal bir boğada tespit edilmiştir (Vanhoudt ve ark. 2015).

Çizelge 1.3. Dünyada sığırlarda *Besnoitia besnoiti*’nin seroprevalansı

Bölge	Ülke	Kullanılan Test	Pozitiflik Oranı (%)	Kaynak
Avrupa	İspanya	ELISA	16	Alvarez-Garcia ve ark. 2014 Fernandez Garcia ve ark. 2009a Esteban-Gil ve ark. 2017 Garrido-Castane ve ark. 2019
			90.5	
			38.34	
			38.5	
	Portekiz	B-MAT	5.1	Waap ve ark. 2014
	Yunanistan	ELISA	22	Papadopoulos ve ark. 2014
	İrlanda	ELISA	68	Ryan ve ark. 2016
	Hırvatistan	ELISA	42.3	Beck ve ark. 2013
	İsviçre	ELISA	13.17	Basso ve ark. 2013
			IFAT	
İtalya	IFAT	9.7	Gentile ve ark. 2012 Rinaldi ve ark. 2013 Gazzonis ve ark. 2014	
		ELISA		44.1
		ELISA		22.7
Asya	Kore	ELISA	3.4	Lee ve ark. 2017
	İsrail	IFAT	37-66.9	Neuman 1972a
		IFAT	50	Goldman ve Pipano 1983
	Ürdün	ELISA	6	Talafha ve ark. 2015
Avustralya	Avustralya	ELISA	18.4	Nasir ve ark. 2012
Amerika	Brezilya	IFAT	3.48	Uzeda ve ark. 2014
Afrika	Nijerya	IFAT	80.3	Sambo ve ark. 2014
	Mozambik	IFAT	39.4	Atanasio-Nhacumbe ve ark. 2017
	Mısır	ELISA	13.75	Ashmawy ve Abu-Akkada 2014

1.2.5. Patogenez ve Klinik belirtiler

Sığır besnoitiosis, boğalarda geçici veya kalıcı sterilite, deri lezyonları, zayıf vücut kondisyonu, ara sıra abortlar nedeniyle sığır verimliliğini tehlikeye atabilen, Apicomplexan protozoon parazit *B.besnoiti*'nin neden olduğu bir paraziter hastalıktır (Alvarez-Garcia ve ark. 2013).

Sığır besnoitiosisin tipik klinik vakaları iki ayrı sıralı aşamada ortaya çıkar: İlk olarak akut kan damarlarındaki endozoitlerin proliferasyonu ile ilişkili olan anasarka evresi ve daha sonra kist oluşumu ile ilişkili olan kronik skleroderma evresidir. Hastalığın şiddeti etkilenmiş hayvanların hafif ve şiddetli enfeksiyonu ve hatta ölümleri arasında değişebilir. Enfekte birçok hayvan asemptomatik kalır ve hastalığın tek işareti sklera ve konjunktiva ve/veya ineklerde vulval alandaki kistlerin varlığıdır (Pols 1960, Bigalke 1968, Bigalke 1981, Fernandez-Garcia ve ark. 2010).

Hastalığın akut formu enfeksiyondan 11-13 gün sonra meydana gelir ve 6-10 gün sürer (Pols 1960, Bigalke 1968). Akut evre hepsi enfeksiyondan sonra 1-2 hafta içinde gelişen hızlı takizoit proliferasyonu ve takiben immonopatoloji ve doku yıkımı ile karakterizedir. Takizoitler, makrofajlar, fibroblastlar ve kan damarlarının endotel hücrelerinde çoğalır. Bunun sonucunda özellikle dermis, subkutis, fascia ve üst solunum yolları kapillar ve ince venlerinde vaskulitis ve tromboz oluşur (Basson ve ark. 1970, Cortes ve ark. 2014). Bu dönemde anoreksi, genel zayıflık, yem tüketiminin azalmasına bağlı olarak vücut kondisyonunda azalma, 40 °C'nin üzerinde ateş, şiddetli solunum bozukluğu, ruminasyonun durması, derialtı ödem, hızlı kilo kaybı, konjunktivit, seröz burun ve göz akıntısı (Şekil 1.3.), kalp atım hızında ve solunum sayısında artış, fotofobi, epifora, salivasyon, süt veriminin azalması, hareket etmede isteksizlik, yüzeysel lenf yumrularının şişmesi, topallık ve depresyon görülür (Schulz 1960, McCully ve ark. 1966, Cortes ve ark. 2005, Cortes ve ark. 2014, Gollnick ve ark. 2015). İneklerde meme ve meme başlarında konjesyon görülürken, boğalarda testislerde şişkinlik ve ağrı ile karakterize akut orşitis geçici veya kalıcı infertiliteye neden olur (Cortes ve ark. 2005). Her zaman ölümler

sonuçlanmayan akut evre vücut kondüsyonunda önemli derecede azalmaya neden olur (Cortes ve ark. 2005). Gebe hayvanlarda abort görülebilmektedir (Pols 1960).



Şekil 1.3. Akut besnoitiosis'te fotofobi ve ateş ile ilişkili oküler akıntı (Jacquiet ve ark. 2010)

Kronik evre hayvanlar akut evreyi atlatırken gelişir ve ömür boyu devam eder (Pols 1960, Bigalke 1968). Akut evrenin klinik belirtilerinin ortaya çıkmasından 1-2 hafta sonra ödem azalır ve kronik evre başlar. Bu evre yavaş çoğalan bradizoitlerin doku kistlerini oluşturması ile karakterizedir. Gelişen doku kistleri konağın çeşitli dokularında birkaç yıl persiste olarak kalır. Doku kistleri özellikle kutanöz, subkutanöz dokularda, intermusküler fasiada şekillenir (McCully ve ark. 1966, Basson ve ark. 1970, Cortes ve ark. 2014). Bunlar dışında üst solunum yolları, skleral konjunktiva, kas, vulva mukozası ve ara sıra karaciğer, dalak ve kalp kaslarında da doku kistlerine rastlanabilir (Şekil 1.4.) (Jacquiet ve ark. 2010).



Şekil 1.4. Sklera ve konjunktivada kistler (Jacquiet ve ark. 2010)

Anoreksi ve kilo kaybına neden olan düşük dereceli aralıklı bir ateş reaksiyonu gözlenebilir. Bu aşamada her zaman farklı özellikte tüy dökülmeleriyle karakterize deri lezyonları görülür. Her zaman hiperkeratoz, hiperpigmentasyon ve alopesi ile birlikte özellikle boyun, omuz ve sağrı kısmındaki deride kalınlaşma, sertleşme ve katlanma ya da buruşma ortaya çıkar (Pols 1960, Cortes ve ark. 2014). Derinin kalınlaşması sklerodermadan kaynaklanır (Basson ve ark. 1970). Hayatta kalan hayvanlarda skleroderma ve alopesi kalıcıdır (Şekil 1.5.) (Bigalke 1960).



Şekil 1.5. A: Kronik enfekte bir sığırdaki skleroderma B: Skleroderma ve alopesi (Jacquet ve ark. 2010)

Bacaklarda belirgin bir kalınlaşma olabilir ve buna bağlı olarak hareket zor ve ağrılı olabilir (Şekil 1.6.) (Pols 1960). Dispneye eşlik eden mukopurulent burun akıntısı ortaya çıkabilir (McCully ve ark. 1966, Cortes ve ark. 2014). Skleral konjunktiva, burun boşluğunu kaplayan mukoz membranlar ve vestibulum vajinada yüzeysel yerleşen kistler özel teşhis değeri taşır. Topluğne başı büyüklüğündeki beyaz çıkıntılar sığır besnoitiosis için patognomoniktir (Gollnick ve ark. 2015).



Şekil 1.6. Bacaklarda ödemli şişkinlik (Jacquiet ve ark. 2010)

Kronik evrenin hayvanın sağlık durumunu önemli düzeyde etkilemediği olgularda, parazit persiste olarak kalır ve hayvanın vücut kondüsyonu iyileşse bile derinin herhangi bir yerinde çok sayıda kist oluşturur. Bu aşamadaki inekler halen fertildir ve sıklıkla gebe kalıp doğum yaparlar. Ancak hastalık süt üretim miktarını olumsuz yönde etkilediğinden, buzağların da büyüme kapasitesi negatif olarak etkilenir (Cortes ve ark. 2006b, Cortes ve ark. 2014). Meme ve meme başı mukozasında çok sayıda kist bulunması ve buraların elastikiyetini kaybetmesi nedeniyle meme başlarında büyük yaralar ve bunun sonucunda da kanamalar oluşur (Cortes ve ark. 2014).

Enfekte boğalarda da hastalığın akut ve kronik devrelerinde benzer belirtiler görülür. Ciddi derecede etkilenen boğalarda kalıcı infertiliteye neden olan vaskülit, fokal nekroz, skleroz ve atrofi gibi geri dönüşümsüz intratestiküler lezyonlar geliştirir (Kumi-Diaka ve ark. 1981). Kronik olaylarda görülen ölüm oranı genellikle %10 civarındadır (Pols 1960).

1.2.6. Teşhis

Hastalığın tanısında sitoloji (Sanussi 1991), histopatoloji (Bigalke 1968) seroloji (Cortes ve ark. 2006a, Alvarez-Garcia ve ark. 2009, Fernandez-Garcia ve ark. 2009a, Fernandez-Garcia ve ark. 2010) ve PCR testi (Cortes ve ark. 2007) gibi bir dizi tanı testi mevcuttur.

Enfeksiyonun akut döneminde nonspesifik klinik belirtilerden dolayı hayvanların klinik olarak teşhis edilmesi zordur. Hastalığa özel klinik bulgular, kronik aşamada doku kistlerinin gelişmesiyle ortaya çıkmaktadır. Bu dönemde klinik muayene önemli olup, doku kistlerinin varlığını doğrulamak için deri biyopsileri, numuneyi trichineloscop plakalar ve hatta histopatoloji ile incelemek hastalığın teşhisi için iyi bir yöntemdir (EFSA 2010).

Deri biyopsilerinin histolojik kesitlerinde, perivasküler inflamatuvar infiltrat, esasen papiller tabakadaki endotel hücrelerinin içindeki takizoitler ile birlikte saptanabilirken, retiküler tabakaya dağılmış olan az miktarda takizoit bulunur. Takizoitler enfeksiyondan sonra 10-12 gün boyunca (Basson ve ark. 1970) ve serokonversiyondan 1 hafta öncesine kadar (Langenmayer ve ark. 2015a) tespit edilebilir. Daha sonra takizoitler deride nadir görülür (Langenmayer ve ark. 2015b). Eş zamanlı olarak, parazitin başlangıçta çoğaldığı bölgede doku kisti oluşumu başlar ve vücudun her yerine bağ dokuları için özel bir tropizm ile kan damarlarının intimalarında çok sayıda genç *Besnoitia* doku kisti bulunabilir (McCully ve ark. 1966, Neuman 1972b, Kumi-Diaka ve ark. 1981, Nobel ve ark. 1981).

Takizoitler nadiren tespit edilebilir. Bunlar zaman zaman kan frotilerinde ve deri biyopsilerinde görülebilir (Bigalke 1968, Gollnick ve ark. 2015). Bunlar serokonversiyondan birkaç gün sonra dermisin papiller katmanındaki endotel hücrelerinin içinde tespit edilebilirler. İmmunohistokimya diğer yöntemlere göre daha fazla hassastır. Çünkü erken aşamada parazitin saptanması, spesifik bir antikor kullanılmadan daha zordur (Langenmayer ve ark. 2015a, Gutierrez-Exposito ve ark. 2017).

Sığırlarda *B. besnoiti* antikorlarını saptamak amacıyla çeşitli serolojik testlerden yararlanılmaktadır. Bu güne kadar ELISA, IFAT, Western Blot ve Modifiye aglütinasyon testinden yararlanılmıştır. Bu testler genellikle takizoit antijenlerine dayanmakla birlikte, bazılarında bradizoit antijenleri kullanılır. Neuman (1972a) enfekte gerbillerin karın boşluğundan elde ettiği takizoitler ile IFAT testini geliştirmiştir. Daha sonra buna ek olarak yeni IFAT yöntemleri ve ilk defa ELISA ve immunoblot teknikleri standardize edilmiştir. Bu yöntemlerde hücre kültürlerinde rutin olarak çoğaltılan takizoitler kullanılmıştır. Son yıllarda bir mikroaglütinasyon (MAT) testi de geliştirilmiştir. MAT testi düşük maliyetli olması, yüksek ölçekli uygulanabilirliği ve spesifik sekonder antikorlara gereksinim duyulmadan antikorların tespit edilebilmesi, IFAT, ELISA ve immunoblot gibi uzmanlık gerektiren, pahalı reaktif ve karmaşık cihaz gerektiren testlerin uygun olmadığı vahşi hayat çalışmalarında bu tekniği cazip hale getirmektedir (Gutierrez-Exposito ve ark. 2017). Sığırlarda *B. besnoiti* enfeksiyonunun teşhisinde bildirilen duyarlılık ve özgüllük sınırlı bir serum paneliyle IFAT sonuçlarına dayanarak elde edilmiştir. Bu nedenle sığırlarda ELISA ve immunoblot gibi onaylanmış testler tercih edilir. Yapılan diğer doğrulama çalışmaları bazı in house ticari ELISA kitlerinin cut-off değerlerinin ve teşhis özelliklerinin iyileştirilmesini sağlamıştır (Schaes ve ark. 2011a, Garcia-Lunar ve ark. 2013, Gutierrez-Exposito ve ark. 2017).

Moleküler teknikler, histopatolojik tekniklere kıyasla daha fazla duyarlıdır ve dokularda ve tam kanda kullanılır (Schaes ve ark. 2011b, Frey ve ark. 2013, Schaes ve ark. 2016, Gutiérrez-Expósito ve ark. 2017b). *Besnoitia besnoiti*'nin ITS1 gen bölgesinin amplifikasyonuna dayanan konvansiyonel ve kantitatif PCR için yüksek özgüllük ve duyarlılık değerleri bildirilmiştir (Cortes ve ark. 2007, Schaes ve ark. 2011b). Akut enfekte sığırlarda seroloji ile karşılaştırıldıklarında moleküler testler dikkat edici düzeyde daha yüksek duyarlılığa sahiptir (Schaes ve ark. 2013). Bu durum moleküler tekniklerin akut enfekte sığırlarda serokonversiyondan önce kanda ve deri biyopsilerinde parazitin tespit edilebileceğini göstermektedir. Hastalığın akut döneminde seronegatif olarak ölen boğalarda parazitin tespit edilmesi için hedef bölge erkek üreme sistemidir (Dubey ve ark. 2013). Aksine subklinik enfekte sığırlarda, doku kisti sayısı az olacağından (Frey ve ark. 2013) ve paraziteminin saptanması muhtemel olmadığından kullanılabilirliği sınırlıdır (Gutierrez-Exposito ve

ark. 2017). Hastalığın kronik döneminde doku kistlerinin büyük olması ve sayısının artması nedeniyle hayvanların parazit yükü daha yüksektir. Bu nedenle mikroskop altında doku kistlerinin tanımlandığı bölgelerde kantitatif PCR ile parazit en yoğun olarak tanımlanmıştır (Schaes ve ark. 2016). Moleküler teknikler parazitin intraorganik dağılımı çalışmalarında özellikle faydalıdır (Frey ve ark. 2013, Lienard ve ark. 2015). Bu teknikler aynı zamanda diğer memeli konaklarda (Basso ve ark. 2011, Gutierrez-Exposito ve ark. 2016) ve kan emen artropodlarda (Lienard ve ark. 2013, Gollick ve ark. 2015) parazitin saptanmasında kullanışlıdır (Gutierrez-Exposito ve ark. 2017).

1.2.7. Tedavi, Koruma ve Kontrol

Besnoitiosisin ilaçla tedavisi hakkında herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Hasta hayvanlar sağlamlardan ayırt edilmeli ve semptomatik tedavi yapılmalıdır. Oksitetrasiklin bileşiklerinin enfeksiyonun erken dönemlerinde uygulandıklarında etkili olduğu belirtilmiştir (Bigalke ve Prozesky 1994, Leighton ve Gajadhar 2001). Sülfonamidler klinik belirtilerin ciddiyetini azaltmak için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte bu ilaçlar genellikle enfekte sığırları tedavi edememekte, tedavi hızlı ve doğru uygulansa bile nüks şekillenmektedir. Müller ve ark. (2019) in vitro ortamda buparvaquon'un etkinliğini değerlendirdikleri bir çalışmada, 4 günlük ilaç uygulamasının takizoit proliferasyonun belirgin bir inhibisyonu ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. İn vitro çalışmalar, tirozolid nitazoksanitin (NTZ) ve farklı NTZ türevlerinin Vero hücre kültürlerinde *B. besnoiti*'ye karşı etkinliğini göstermiştir (Cortes ve diğerleri 2007), ancak *B. besnoiti* enfeksiyonunun in vivo tedavisini araştırmak için daha ileri çalışmalar gerekmektedir. Cervantes-Valencia ve ark. (2019) doğal, bitkisel kökenli bir bileşik olan curcumin'in *B. besnoiti* takizoitlerine in vitro anticoccidial etki gösterdiğini kanıtlamışlardır.

Güney Afrika ve İsrail de koruyucu amaçla atenüe canlı aşilar geçmişte kullanılmış olmasına rağmen, günümüzde hastalığın kontrolünde kullanılacak bir ilaç ya da ticari bir aşı bulunmamaktadır (EFSA 2010).

Güney Afrika'da hastalığın yoğun olduğu çiftliklerde Bigalke ve ark. (1974) sığırlarının % 100'ünün *B. besnoiti* mavi wildebeest suşu ile aşılandığında 1-4 yıllık bir gözlem süresi boyunca hastalığın klinik formundan korunduğu tespit edilmiştir. Avrupa'da günümüzde, enfekte hayvan ticareti ile enfekte olmayan sürülere hastalığın bulaşmasını önlemek için sadece güvenilir teşhis yöntemleri ile sürü yönetimi uygulamaları yapılmaktadır (EFSA 2010).

Sonuç olarak kontrol stratejileri çok sınırlıdır. Kontrol stratejisi 3 aşamaya dayanır. Bunlar; 1) Mevcut serolojik araçları kullanarak *Besnoitia* içermeyen bir sığır sürüsüne bir hayvanı sokmadan önce bir serolojik inceleme yapılmalı 2) Tüm seropozitif hayvanları olabildiğince hızlı ayırmak için daha önce ari bir sürüde hastalığın ortaya çıkması durumunda bireysel enfeksiyon durumu hızlı ve sistematik olarak değerlendirilmeli 3) sokucu sineklerden hayvanların korunmalıdır. Sokucu sineklerle mücadele için sığırlarda tam olarak açık bir korunma programı bildirilmemiş olsada, piretroid insektisidlerle düzenli ilaçlamaya dayanmaktadır (Jacquiet ve ark. 2010).

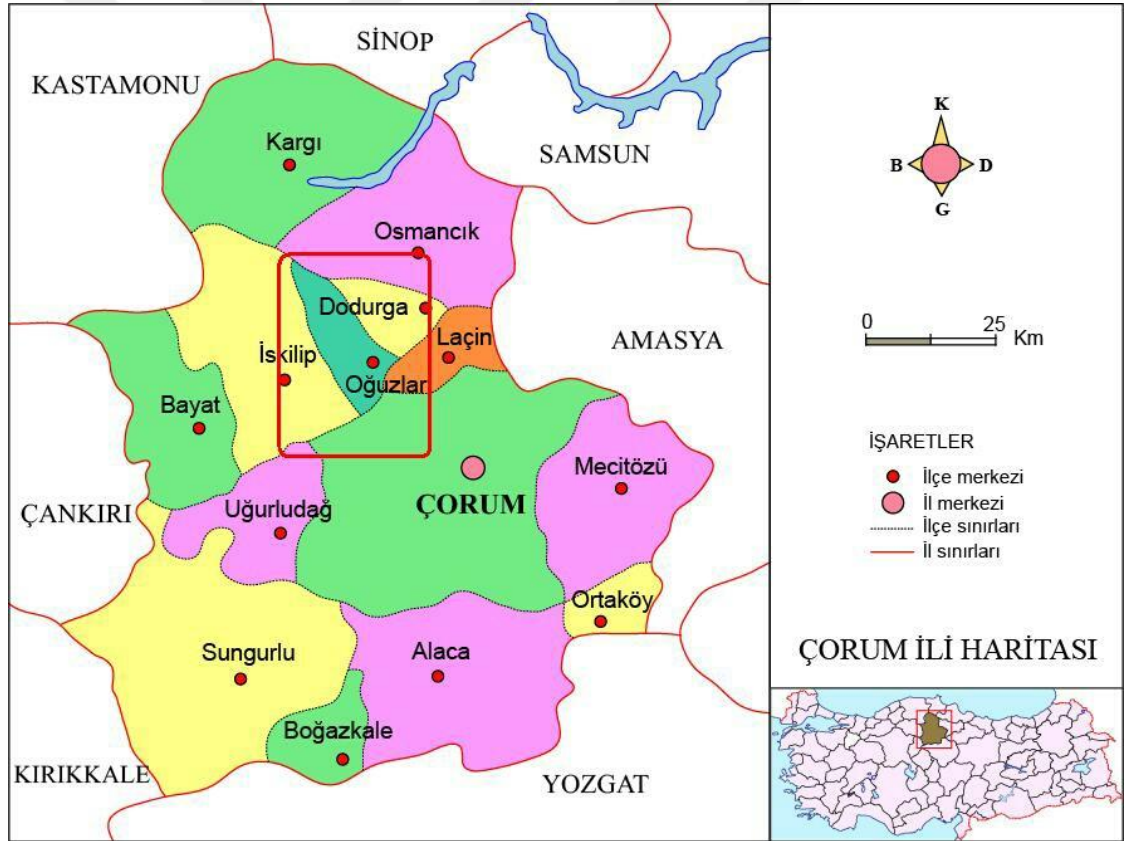
Korunmada insektlerle bulaşma veya iatrogenik bulaşmanın önlenmesi gerekmektedir. Özellikle çiftçiler ve veteriner hekimler, bu hastalığın klinik bulguları ve bulaşma yolları hakkında bilinçlendirilmelidir. Endemik bölgelerde enfeksiyonun kesin tanısı ve bulaşma yollarıyla ilgili detaylı epidemiyolojik çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bu bağlamda direkt temasın, doğal boğa aşımının, kan emici sinekler vasıtasıyla mekanik naklin ve rezervuar hayvanların bulaşmadaki rolleri değerlendirilmelidir (Sevinç 2013).

Bu çalışma'da Çorum iline bağlı Oğuzlar ilçesindeki sığırlarda, *N. caninum* ve *B. besnoiti* seroprevalansının araştırılması ve bu etkenlerin bölgedeki varlığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Çalışma Merkezinin Seçimi

Bu çalışmanın örnekleri Aralık 2017-Eylül 2018 tarihleri arasında Çorum ili Oğuzlar ilçesine bağlı 10 farklı çiftlikte halk tarafından serbest yetiştirilen dişi ve erkek sığırlardan alınmıştır. Sığır kan örnekleri Oğuzlar ilçesinde 6 farklı çalışma merkezinden toplam 100 hayvandan elde edilmiştir.



Şekil 2.1. Çorum il haritası (<http://www.corumkulturturizm.gov.tr/> Erişim Tarihi:19.03.2019)

Oğuzlar ilçesi genel olarak Karadeniz Bölgesinin, Orta Karadeniz Bölümünde yer almaktadır. Oğuzlar ve çevresi genel olarak Karadeniz iklimi ile İç Anadolu Bölgesinin karasal iklimi arasında bir geçiş iklimine sahiptir. Önü Kızılırmak, iki tarafı yüksek dağlarla çevrilidir ve Kızılırmak'a doğru uzanan bir vadi içinde, çıkışı olmayan bir cebi andırmaktadır. Güneydoğusunda bulunan Kızılırmak'ın etkisiyle nem oranı yüksektir. Çorum ilinin 63 km kuzeybatısında yer alıp 40 kuzey enlemi ve 26 doğu boylamında bulunmaktadır. Yüzölçümü 121 km rakımı ise 650 metredir. Oğuzlar da yıllık ortalama sıcaklık 11.4°C yıllık ortalama yağış miktarı ise 454 mm'dir (Şekil 2.1.) (<http://oguzlar.bel.tr/ilcemiz/ilcemizin-tarihi-496> Erişim tarihi: 19.03.2019).

2.2.Saha Çalışmaları

Örneklenen sığırlardan kan alınması ve çalışılmasına dair T.C Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğünden izin alınmıştır (19.09.2017 tarih ve 55016929-605.99-E.2299091 sayılı yazı). Kan örnekleri Aralık 2017-Eylül 2018 tarihleri arasında toplanmıştır. Oğuzlar ilçesine bağlı 10 çiftlik ziyaret edilerek, toplam 100 hayvanın *vena jugularis*'inden antikoagulantsız tüplere usulüne uygun olarak kan örneği alınmıştır. Alınan kan örnekleri soğuk zincirde Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarına ulaştırılmıştır. Kan örneği alınan sığırların yaş, cinsiyet, ırk, dişi hayvanların gebelik durumları ve geçmişlerinde abort hikâyesi olup olmadığı, hayvanların köpeklerle bir temasının olup olmadığı hayvan sahibinden öğrenilmiştir.

2.3. Laboratuvar Çalışmaları

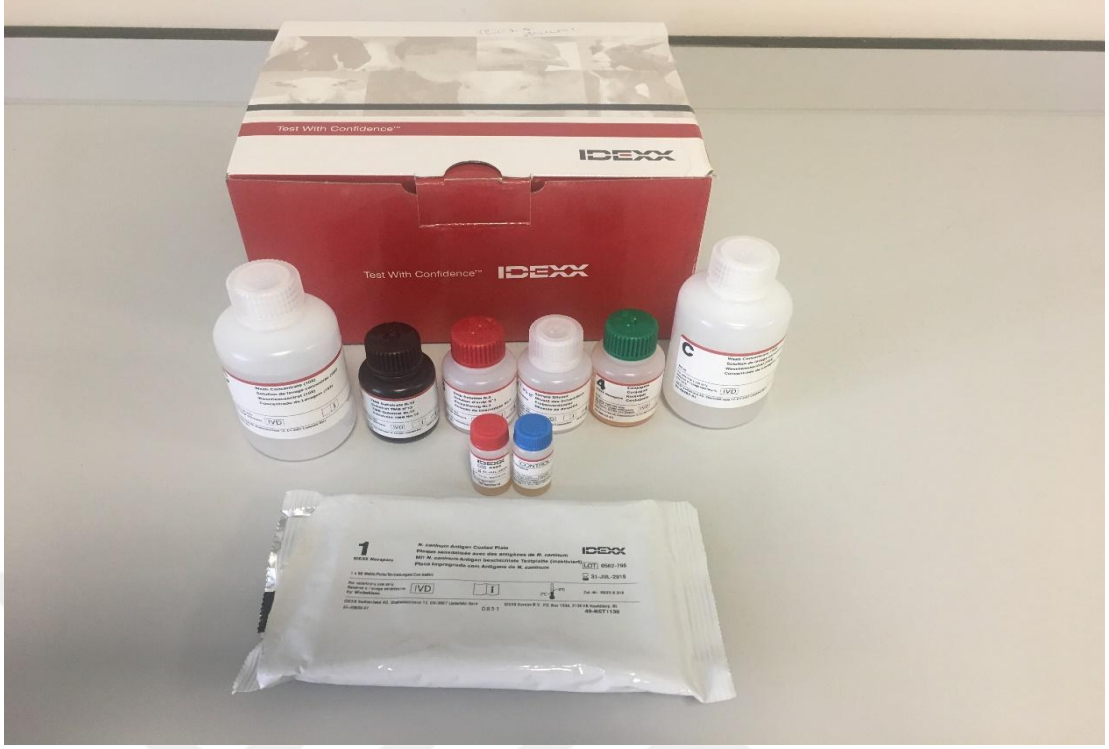
2.3.1. Kan serumlarının elde edilmesi

Laboratuvara soğuk zincirde ulaştırılan kanlar 3000 g de 10 dakika santrifüj (Nüve NF200) edilerek serumlar elde edilmiştir. Elde edilen serumlar ELISA yönteminde kullanılmaya kadar -20 °C’de saklanmıştır.

2.3.2. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Testi (ELISA)

2.3.2.1. *Neospora caninum* antikorlarının aranması

Elde edilen serum örneklerinde *N. caninum* antikorlarının araştırılması amacıyla ticari Kompetatif ELISA (cELISA) kiti (IDEXX, İsviçre) kullanılmıştır (Şekil 2.2.). ELISA testi firmanın önerdiği şekilde yapılmıştır.



Şekil 2.2. *Neospora caninum* c-ELISA kiti

2.3.2.1.1.Ön Hazırlık Aşaması

Reaktifler kullanılmadan önce serum örnekleri, test solüsyonları ve *N. caninum* antijeni ile kaplı mikropleytlar oda sıcaklığına (18-26°C) getirilmiştir. Serumların protokol numaraları önceden hazırlanan veri kayıt formuna yazılmıştır. ELISA testinde kullanılacak olan tüm solüsyonlar ve sığır kan serumları vorteks (Velp Scientifica, İtalya) ile karıştırılmıştır. Çalışmada kullanılacak yıkama solüsyonunu hazırlamak amacıyla 10 X'lik konsantre yıkama solüsyonu steril distile su ile 1:10 oranında sulandırılmıştır.

2.3.2.1.2. ELISA Testinin Yapılışı

1. Otomatik pipet yardımıyla kuyucukların her birine 90 µl örnek sulandırma solüsyonundan (Sample diluent) eklenmiştir.
2. Mikropleytin A1 ve B1 kuyucuğuna negatif kontrol ve C1 ve D1 kuyucuğuna pozitif kontrolden 10'ar µl eklenmiştir.
3. Mikropleytlerin diğer kuyucuklarına sıra ile serum örnekleri kontaminasyon olmamasına dikkat edilerek mikropipet yardımıyla damlatılmıştır.
4. Mikropleyt nazikçe karıştırıldıktan sonra plaka üzeri herhangi bir buharlaşmayı önlemek için sıkıca kapatılarak 37°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) de 1 saat (± 5 dakika) inkübasyona bırakılmıştır.
5. Süre bitiminde mikropleyttteki solüsyon dikkatli bir şekilde döküldükten sonra, çok kanallı pipet yardımıyla her bir kuyucuğa 300 µl yıkama solüsyonu eklenerek, 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. ELISA yıkama işleminin yapılması

6. Son yıkamadan sonra mikroyeyt kurutma kâğıdı üzerine sert ve dikkatli bir şekilde birkaç kez vurularak içlerindeki yıkama solüsyonu kalmaması sağlanmıştır.
7. Mikroyeytlerin her bir kuyucuğuna 100 µl konjugat eklenmiştir. Yine aynı şekilde mikroyeytlerin üzeri kapatılarak 37°C (±3°C)'de 1 saat (±5 dakika) inkübasyona bırakılmıştır.
8. Yıkama işlemi madde 5'te bahsedildiği gibi tekrarlanmıştır.
9. Mikroyeytlerin her bir kuyucuğuna 100 µl substrat (TMB Substrate N.12) eklenmiştir. Oda sıcaklığında (18-26°C), 15 (±1) dakika inkübasyona bırakılmıştır.
10. Süre bitiminde mikroyeytlerin her bir kuyucuğuna 100 µl stop solüsyonu (Stop Solution N.3) hızlı bir şekilde eklenmiş ve renk reaksiyonu durdurulmuştur.
11. Stop solüsyonu eklendikten hemen sonra ELISA cihazında (Sirio S, Kanada) 450 nm dalga boyunda okutularak elde edilen değerler IDEXX kit prosedüründe belirtilen formülden yararlanılarak hesaplanmıştır.

2.3.2.1.3.Sonuçların değerlendirilmesi ve yorumlanması

Sonuçlar değerlendirilirken pozitif ve negatif kontrollerin hesaplanması aşağıdaki formüllere göre yapılmıştır.

$$NK\bar{x} = \frac{NK1A(450) + NK2A(450)}{2}$$

$$PK\bar{x} = \frac{PK1A(450) + PK2A(450)}{2}$$

Testin geçerliliği için yukarıdaki formüllere göre $NK\bar{x} \leq 0.500$, $PK\bar{x} \leq 2.000$,

$PK\bar{x} - NK\bar{x} \geq 0.300$ olmalıdır.

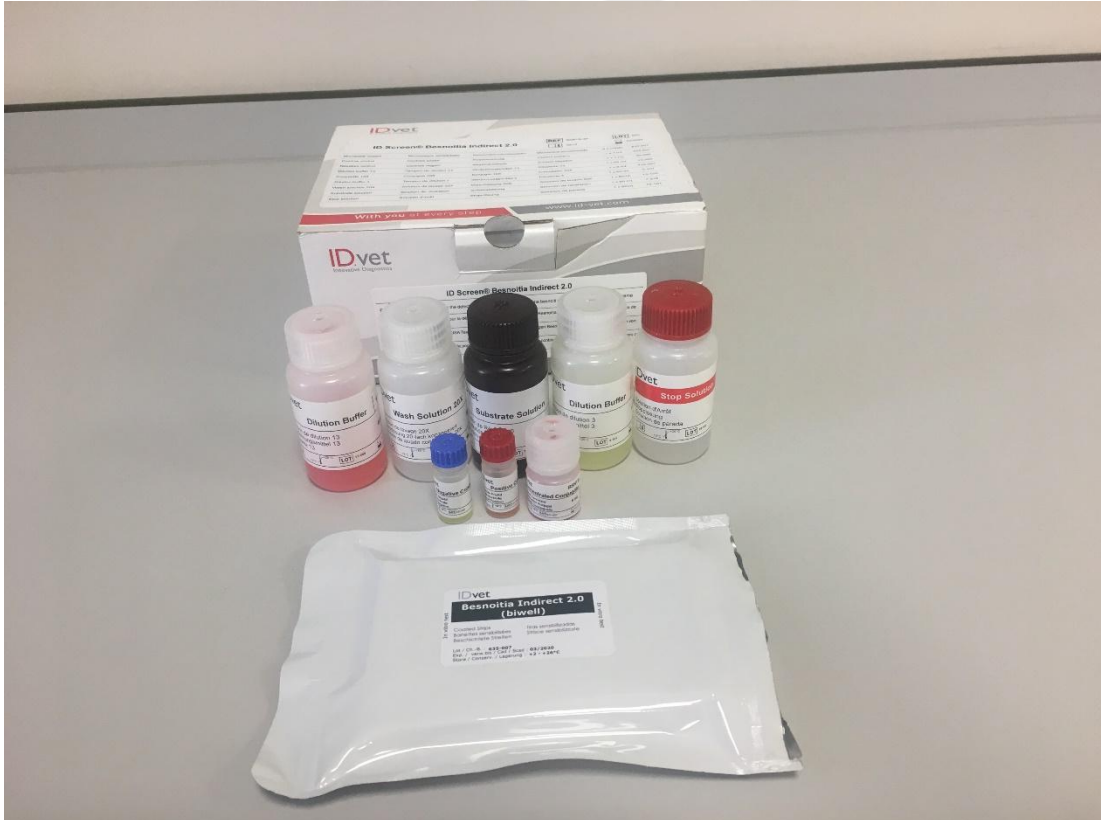
Örnekler %S/P değeri aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

$$\%S/P = 100x \frac{\text{Örnek}A(450) - NK\bar{x}(450)}{PK\bar{x} - NK\bar{x}}$$

Bu formüle göre %S/P <30 ise negatif, $30 \leq \%S/P < 40$ şüpheli, %S/P ≥ 40 ise pozitif olarak değerlendirilmiştir.

2.3.2.2. *Besnoitia besnoiti* antikorlarının aranması

Çalışmada *Besnoitia besnoiti* antikorlarının araştırılması amacıyla ticari ELISA (cELISA) kiti (ID.vet, Fransa)) kullanılmıştır (Şekil 2.4.). ELISA testi, ticari firmanın önerdiği şekilde yapılmıştır.



Şekil 2.4. *Besnoitia besnoiti* c-ELISA Kiti

2.3.2.2.1.Ön Hazırlık Aşaması

Reaktifleri kullanmadan önce sığır serumları, test solüsyonları ve *B. besnoiti* antijeni ile kaplı mikropleytler oda sıcaklığına ($21\pm 5^{\circ}\text{C}$) getirilmiştir. Serumların protokol numaraları önceden hazırlanan veri kayıt formuna yazılmıştır. ELISA testinde kullanılacak olan tüm solüsyonlar ve sığır kan serumları vorteks (Velp Scientifica, İtalya) ile karıştırılmıştır. Çalışmada kullanılacak yıkama solüsyonunu hazırlamak amacıyla 20X'lik konsantre yıkama solüsyonu steril distile su ile 1:20 oranında sulandırılmıştır.

2.3.2.2.2.ELISA Testinin Yapılışı

1. Otomatik pipet yardımıyla kuyucukların herbirine 90 µl örnek sulandırma solüsyonundan (Dilution buffer 13) eklenmiştir.
2. Mikropleytin A1, B1 ve A2, B2 kuyucuklarına pozitif kontrolden, C1 ve D1 ve C2, D2 kuyucuklarına negatif kontrolden 10'ar µl eklenmiştir.
3. Mikropleytlerin diğer kuyucuklarına sıra ile serum örnekleri kontaminasyon olmamasına dikkat edilerek mikropipet yardımıyla damlatılmıştır (Şekil 2.5.). Her bir örnek çift sayılı bir kuyucuk ve bitişiğindeki tek sayılı kuyucukla dublike çalışılmıştır.



Şekil 2.5. ELISA’da örneklerin kuyucuklara dağıtılması

4. Mikropleyt 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) de 45 (± 4) dakika inkübasyona bırakılmıştır.
5. Süre bitiminde plakadaki solüsyon dikkatli bir şekilde döküldükten sonra, çok kanallı pipet yardımıyla her bir kuyucuğa 300 μl yıkama solüsyonu eklenerek, 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.
6. Son yıkamadan sonra mikropleyt kurutma kâğıdı üzerine sert ve dikkatli bir şekilde birkaç kez vurularak içlerindeki yıkama solüsyonu kalmaması sağlanmıştır.
7. 10X 'lik konjugat, konjugat sulandırma solüsyonu (Dilution buffer 3) ile $1:10$ oranında sulandırıldıktan sonra her bir kuyucuğa 1X 'lik konjugattan 100 'er μl eklenmiştir.
8. Mikropleyt 21°C ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) de 30 (± 3) dakika inkübasyona bırakılmıştır.
9. Yıkama işlemi madde 5’te bahsedildiği gibi tekrarlanmıştır (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. *B.besnoiti* ELISA yıkama işleminin yapılması

10. Mikropleytlerin her bir kuyucuğuna 100 µl substrat eklenmiştir.
11. Mikropleyt karanlık ortamda, 21°C (± 5°C), 15 (±2) dakika inkübasyona bırakılmıştır.
12. Süre bitiminde mikropleytlerin her bir kuyucuğuna 100 µl stop solüsyonu hızlı bir şekilde eklenmiş ve renk reaksiyonu durdurulmuştur.
13. Stop solüsyonu eklendikten hemen sonra ELISA cihazında (Sirio S, Kanada) 450 nm dalga boyunda okutularak elde edilen OD değerleri kaydedilmiştir (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. ELISA sonuçlarının mikroyuvarlak okuyucuda analiz edilmesi

2.3.2.2.3. Sonuçların Değerlendirilmesi ve Yorumlanması

Sonuçlar değerlendirilirken öncelikle net OD değeri aşağıdaki formüller hesaplanmıştır.

$$\text{Net OD} = \text{OD tek kuyucuk} - \text{OD çift kuyucuk}$$

Bu formüle göre pozitif kontrol net OD değeri 0.350 ise test doğrudur.

Sonuçlar yorumlanırken her bir örnek için yüzde S/P (%S/P) değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\%S/P = \frac{\text{netOD}(\text{örnek})}{\text{net OD pk}} \times 100$$

Bu formüle göre $\%S/P \leq 25$ ise negatif, $\%25$ ile $\%30$ arasında ise şüpheli ve ≥ 30 ise pozitif olarak değerlendirilmiştir.

2.3.4. İstatistiksel analiz

İrk, cinsiyet ve yaşları dikkate alınarak oluşturulan grupların, *N. caninum* ve/veya *B. besnoiti* seroprevalansı bakımından farklılığının araştırılmasında Ki-Kare testinden yararlanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler minimum $\%5$ hata payı ile incelenmiştir. İstatistiki analizde SPSS 22. paket programından yararlanılmıştır.



3. BULGULAR

Çalışma kapsamında toplam 6 merkeze bağlı 10 çiftlikten örnek alınmıştır. Örnek alınan hayvanlar Simental, Melez ve diğer ırklara (Montofon+Yerlikara) ait (Çizelge 3.1.), 16 tanesi erkek, 84 tanesi dişi sığırdır. Bu sığırların 30 tanesi 1 yaş altı, 58 tanesi 1-5 yaş ve 6 tanesi 6 yaş üzerindedir (Çizelge 3.2.)

3.1. Örneklenen Hayvanlara Ait Epidemiyolojik Veriler

Çizelge 3.1. Örnek alınan sığırların ırklara göre dağılımı

İrklar	Örnek alınan hayvan sayısı	Oranı (%)
Simental	58	58
Diğer (Montofon+Yerlikara)	19	19
Melez	23	23

Çizelge 3.2. Örnek alınan sığırların yaş ve cinsiyete göre dağılımı

Yaş	Erkek	%	Dişi	%	Toplam
<1 yaş	11	68.75	19	22.62	30
1-5 yaşlı	5	31.25	53	63.10	58
≥6 yaş	-	-	12	14.28	12

3.2. *Neospora caninum* ve *Besnoitia besnoiti* ELISA Sonuçları

Çalışma kapsamında örneklenen sığırların 2 tanesi (%2) *N. caninum*, 5 tanesi (%5) *B. besnoiti* yönünden seropozitif bulunmuştur. Örneklenen sığırların hiç birinde miks enfeksiyon tespit edilmemiştir.

3.2.1. *Neospora caninum* sonuçları

Neospora caninum yönünden pozitif tespit edilen sığırlar Simental ırkıdır. Ancak *N. caninum* seropozitifliği açısından ırklar arasında istatistik olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 3.3.).

Çizelge 3.3. Sığır ırklarına göre *N. caninum* seropozitifliğinin dağılımı

			<i>N. caninum</i>		Toplam
			Pozitif	Negatif	
İrk	Simental	N	2	56	58
		% İrk	%3.4	%96.6	%100.0
		% <i>N.caninum</i>	%100.0	%57.1	%58.0
		% Toplam	%2.0	%56.0	%58.0
Melez	Melez	N	0	23	23
		% İrk	%0.0	%100.0	%100.0
		% <i>N.caninum</i>	%0.0	%23.5	%23.0
		% Toplam	%0.0	%23.0	%23.0
Diğer (Montofon, Yerlikara)	Diğer (Montofon, Yerlikara)	N	0	19	19
		% İrk	%0.0	%100.0	%100.0
		% <i>N. caninum</i>	%0.0	%19.4	%19.0
		% Toplam	%0.0	%19.0	%19.0
Toplam	Toplam	N	2	98	100
		% İrk	%2.0	%98.0	%100.0
		% <i>N.caninum</i>	%100.0	%100.0	%100.0
		% Toplam	%2.	%98.0	%100.0

Pearson Ki-Kare= 1.478

p=0.478

Neospora caninum seropozitif olarak tespit edilen örneklerden biri 1 yaş altında, diğeri ise 5 yaşındadır. 6 yaş ve üzerindeki hayvanlarda seropozitiflik tespit edilmemiştir. Ancak *N. caninum* seropozitifliği açısından yaş grupları arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 3.4.).

Çizelge 3.4. Yaş gruplarına göre *N. caninum* seropozitiflik dağılımı

			<i>N. caninum</i>		Toplam
			Pozitif	Negatif	
Yaş	<1 yaş	N	1	29	30
		% Yaş	%3.3	%96.7	%100.0
		% <i>N.caninum</i>	%50.0	%29.6	%30.0
		% Toplam	%1.0	%29.0	%30.0
1-5 yaş	N	N	1	57	58
		% Yaş	%1.7	%98.3	%100.0
		% <i>N. caninum</i>	%50.0	%58.2	%58.0
		% Toplam	%1.0	%57.0	%58.0
≥6 yaş	N	N	0	12	12
		% Yaş	%0.0	%100.0	%100.0
		% <i>N. caninum</i>	%0.0	%12.2	%12.0
		% Toplam	%0.0	%12.0	%12.0
Toplam	N	N	2	98	100
		% Yaş	%2.0	98.0%	%100.0
		% <i>N.caninum</i>	%100.0	100.0%	%100.0
		% Toplam	%2.0	%98.0	%100.0

Pearson Ki-Kare= 0.546 p=0.764

Neospora caninum yönünden seropozitif olarak tespit edilen her iki örnek de dişi hayvanlara aittir. Dişi hayvanlarda seropozitiflik %2.4 olarak belirlenmiştir. Ancak dişi ve erkekler arasında seropozitiflik açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 3.5.).

Çizelge 3.5. Cinsiyete göre *N. caninum* seropozitiflik dağılımı

		<i>N. caninum</i>		Toplam
		Pozitif	Negatif	
Cinsiyet Dişi	N	2	82	84
	% Cinsiyet	%2.4	%97.6	%100.0
	% <i>N. caninum</i>	%100.0	%83.7	%84.0
	% Toplam	%2.0	%82.0	%84.0
Erkek	N	0	16	16
	% Cinsiyet	%0.0	%100.0	%100.0
	% <i>N. caninum</i>	%0.0	%16.3	%16.0
	% Toplam	%0.0	%16.0	%16.0
Toplam	N	2	98	100
	% Cinsiyet	%2.0	%98.0	%100.0
	% <i>N. caninum</i>	%100.0	%100.0	%100.0
	% Toplam	%2.0	%98.0	%100.0

Pearson Ki-Kare= 0.389

p=0.692

3.2.2. *Besnoitia besnoiti* sonuçları

Çalışma sonucunda 5 (%5) adet sığır *B. besnoiti* yönünden seropozitif olarak tespit edilmiştir.

Besnoitia besnoiti yönünden seropozitif tespit edilen hayvanlarda 4 tanesi Simental, 1 tanesi ise Melez ırklara aittir. İncelenen Simental ırkı hayvanların %6.9'u, Melez ırkı hayvanların ise %4.3'ü *B. besnoiti* yönünden seropozitif bulunmuştur. İncelenen diğer ırk (Montofon ve Yerlikara) hayvanların hiç birinde pozitiflik saptanmamıştır. İrklar arasında *B. besnoiti* seropozitifliği yönünden istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 3.6.).

Tablo 3.6. Irklara göre *B. besnoiti* seropozitiflik dağılımı

			<i>B. besnoiti</i>		Toplam
			Pozitif	Negatif	
Irak	Simental	N	4	54	58
		% Irak	%6.9	%93.1	%100.0
		% <i>B.besnoiti</i>	%80.0	%56.8	%58.0
		% Toplam	%4.0	%54.0	%58.0
	Melez	N	1	22	23
		% Irak	%4.3	%95.7	%100.0
		% <i>B.besnoiti</i>	%20.0	%23.2	%23.0
		% Toplam	%1.0	%22.0	%23.0
	Diğer (Montofon, Yerlikara)	N	0	19	19
		% Irak	%0.0	%100.0	%100.0
		% <i>B.besnoiti</i>	%0.0	%20.0	%19.0
		% Toplam	%0.0	%19.0	%19.0
Toplam		N	5	95	100
		% Irak	%5.0	%95.0	%100.0
		% <i>B.besnoiti</i>	%100.0	%100.0	%100.0
		% Toplam	%5.0	%95.0	%100.0

Pearson Ki-Kare= 1.460 p=0.482

Serolojik olarak *B. besnoiti* yönünden pozitif olarak tespit edilen hayvanların 4 tanesi 1-5 yaş, 1 tanesi ise 6 yaştan büyük sığırlardır. 1 yaşından küçük hayvanlarda seropozitiflik saptanmazken, 1-5 yaşlı hayvanlarda seropozitiflik %6.9, 6 yaşından büyük hayvanlar arasında ise %8.3 oranında tespit edilmiştir. Yaş grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 3.7.).

Tablo 3.7. Yaş gruplarına göre *B. besnoiti* seropozitiflik dağılımı

			<i>B. besnoiti</i>		Toplam
			Pozitif	Negatif	
Yaş	<1 Yaş	N	0	30	30
		% Yaş	%0.0	%100.0	%100.0
		% <i>B. besnoiti</i>	%0.0	%31.6	%30.0
1-5 yaş	N	N	4	54	58
		% Yaş	%6.9	%93.1	%100.0
		% <i>B. besnoiti</i>	%80.0	%56.8	%58.0
≥6 yaş	N	N	1	11	12
		% Yaş	%8.3	%91.7	%100.0
		% <i>B. besnoiti</i>	%20.0	%11.6	%12.0
Toplam	N	N	5	95	100
		% Yaş	%5.0	%95.0	%100.0
		% <i>B. besnoiti</i>	%100.0	%100.0	%100.0

Pearson Ki-Kare= 2.299 p=0.317

Cinsiyet yönünden ele alındığında *B. besnoiti* seropozitif hayvanların tümü dişi hayvanlardır. Erkek hayvanlarda pozitiflik saptanmamıştır. İncelenen dişi hayvanların %6'sı *B. besnoiti* yönünden seropozitif olarak belirlenmiştir (p>0.05) (Çizelge 3.8.).

Çizelge 3.8. Cinsiyete göre *B. besnoiti* seropozitiflik dağılımı

			<i>B. besnoiti</i>		Toplam
			Pozitif	Negatif	
Cinsiyet Dişi	N		5	79	84
	% Cinsiyet		%6.0	%94.0	%100.0
	% <i>B.besnoiti</i>		100.0%	%83.2	%84.0
Erkek	N		0	16	16
	% Cinsiyet		%0.0	%100.0	%100.0
	% <i>B.besnoiti</i>		%0.0	%16.8	%16.0
Toplam	N		5	95	100
	% Cinsiyet		%5.0	%95.0	%100.0
	% <i>B. besnoiti</i>		%100.0	%100.0	%100.0

Pearson Ki-Kare= 1.003 p=0.317

Besnoiti besnoiti yönünden 3 farklı çiftlikte seropozitiflik saptanmıştır. İki çiftlikte 2 şer sığır ve bir çiftlikte 1 sığırda seropozitiflik saptanmıştır. *Neospora caninum* yönünden seropozitif olarak tespit edilen 2 sığır birbirinden farklı çiftliklerde bakılan sığırlardır. Hem *N. caninum* hem de *B. besnoiti* pozitifliği olan çiftlik tespit edilmemiştir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Neospora caninum'un Türkiye'deki sığırlarda yaygınlığının belirlenmesine yönelik serolojik ve moleküler çalışmalar yapılmıştır. Serolojik çalışmalar genellikle ELISA ve IFAT teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalara göre sığırlarda seropozitiflik oranı % 2-37.7 oranında saptanmıştır (Sevgili ve ark. 2005, Vural ve ark. 2006, Simsek ve ark. 2008, Piskin ve Utuk 2009, Celik ve ark. 2013, Ocal ve ark. 2014, Karatepe ve Karatepe 2016). Bu çalışmada ELISA yöntemi kullanılarak incelenen sığır serumlarında % 2 oranında seropozitiflik saptanmıştır. Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında daha düşük oranda seropozitiflik belirlenmiştir. Türkiye'de yapılan serolojik çalışmalarda genelde incelenen örnekler bir yaş üzeri, abort ya da ölü doğum yapmış ineklerde, *N. caninum*'un abort üzerine etkinliğini tespit etmek amacıyla yapılan çalışmalardır. Bu çalışmada ise tamamen subklinik, yaş ve cinsiyet farkı gözetmeksizin örnekler alınmıştır. Bu nedenle oranın düşük olduğu tarafımızdan düşünülmüştür.

Çalışmamızın gerçekleştirildiği Karadeniz bölgesinde yapılan bir çalışmada Samsun'da sığırlarda *N. caninum* serolojik olarak, *Brucella* yönünden negatif sığırlarda % 22.7 (Kaya ve ark. 2011) olarak, Orta Karadeniz bölgesinde Samsun, Tokat ve Giresun illerinden toplanan sığır atık fetüslerinde ise PCR yöntemi kullanılarak sırasıyla % 50, % 60 ve % 100 oranında tespit edilmiştir (Açııcı ve ark. 2015). Bu çalışmada Orta Karadeniz bölgesinde yer alan Çorum ili Oğuzlar ilçesinde sığırlarda oranın bu kadar düşük belirlenmesi, alınan erişkin hayvanlarının hiç birinde abort, ölü doğum, gençlerin hiç birinde ise neosporosisi tanımlayacak bir belirtinin olmaması ve bölgeye genellikle hayvan giriş ve çıkışlarının olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Neosporosiste seropozitiflik ile yaş arasındaki ilişki konusunda farklı görüşler mevcuttur. Bazı çalışmalara göre yaş ile enfeksiyon derecesi arasında bir korrelasyon söz konusudur (Jensen ve ark. 1999, Sanderson ve ark. 2000). Ancak diğer bazı çalışmalarda böyle bir korrelasyonun olmadığı bildirilmiştir (Davison ve ark. 1999, Quintanilla-Gozalo ve ark. 1999, İça ve ark. 2006). Şanlıurfa bölgesinde sığırlarda *N.*

caninum seropozitifliğinin ELISA yöntemiyle belirlendiği çalışmada 2-4 yaş grubundaki sığırlara %8.7 olarak belirlenen seropozitiflik, 5 ve daha büyük yaştaki sığırlarda %5.4 olarak tespit edilmiştir (Sevgili ve ark. 2005). Erzurum'da sığırlarda yapılan bir çalışmada ≤ 1 yaş sığırlarda %13.04, $1 \leq 3$ yaş sığırlarda %9.43 ve > 3 yaş sığırlarda %10.67 seropozitiflik saptanmış ve yaşlar arasında *N. caninum* seropozitifliğinde istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğu bildirilmiştir (Balkaya ve ark. 2012). Mor ve Akça (2012) sığırlarda yaşla birlikte seroprevalansın arttığını ve bu farklılığın istatistiki açıdan önemli olduğunu ifade etmişlerdir. Ekşi ve Ütük (2018) Adana'da yaptıkları çalışmada ≤ 4 yaş sığırlarla, ≥ 5 yaş sığırlar karşılaştırıldıklarında *N. caninum* seropozitivitesi yönünden anlamlı fark olduğunu bildirmişlerdir. Farklı ülkelerde birbirinden bağımsız yapılan birçok araştırmada yaş ile *N. caninum* seroprevalansı arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir (Hussien ve ark. 2012, Nourollahi-Fard ve ark. 2017, Yıldız ve ark. 2017). Bu çalışmada sığırlar 1 yaş altı, 1-5 yaş, 6 yaş üzeri olmak üzere 3 grupta toplanmıştır. *Neospora caninum* yönünden 1 yaş altı sığırlarda %3.3 ve 1-5 yaş arası sığırlarda %1.7 seropozitiflik saptanırken, 6 yaştan büyük hayvanlarda pozitiflik saptanmamıştır. *Neospora caninum*'un sığırlarda hem transplasental yolla hem de dışarıdan gıda ve sularla alınan ookistler yoluyla bulaşabilmesi nedeniyle her yaştaki sığırlarda görülmesi beklenen bir durumdur. Bu çalışmada 6 yaşından büyük hayvanlarda seropozitiflik saptanmamasının nedeni, bu yaş grubundaki hayvanlardan alınan örnek sayısının az olmasından kaynaklanıyor olabileceği tarafımızdan düşünülmüştür.

Sığır ırklarına göre *N. caninum* oranı incelendiğinde, çalışmamızda pozitif olarak tespit edilen her iki sığırında Simental ırkına bağlı olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni olarak alınan örneklerin büyük bir kısmının (%58) Simental ırkına ait hayvanlardan olmasından ve seropozitiflik oranının düşük olmasından kaynaklanmış olabileceğini düşündürmüştür.

Sığır ırkları ile *N. caninum* arasında bir ilişki olup olmadığına yönelik bazı çalışmalar yapılmıştır. Aktaş ve ark. (2005) Doğu Anadolu bölgesinde yaptıkları çalışmada en yüksek pozitifliği Simental ırkı sığırlarda, Ekşi ve Ütük (2018) ise Holstein ırkı sığırlarda tespit etseler de ırklar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark

bulunmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da seropozitif olarak tespit edilen sığırlar Simental ırkına aitti, ancak yine yukarıda bahsi geçen çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olarak ırklar arasında *N. caninum* seropozitifliği açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Dünya üzerinde sığırlarda neosporosis ile ilgili yapılan çalışmalar ekonomik öneminden dolayı genellikle dişi hayvanlar üzerinde yapılmaktadır. Erkeklerin de çalışmaya dahil edildiği ve cinsiyete göre *N. caninum* varlığının incelendiği araştırmalar sınırlı sayıdadır. Karatepe ve Karatepe (2016) birçok çalışmanın aksine c-ELISA yöntemiyle erkeklerde (% 30.43) dişilere (%12.28) oranla daha yüksek pozitiflik saptamışlar ve dişiler ile erkekler arasında *N. caninum* seropozitifliği açısından istatistiki açıdan anlamlı bir fark olduğunu bildirmişlerdir. Yıldız ve Gökpınar (2017) çalışmalarında hem erkek hem de dişilerde seropozitivite tespit edildiğini, ancak bu çalışma da cinsiyetler arasında anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Sözkonusu çalışmada seropozitif iki sığırın beyin örneklerinin PCR ile incelemesinde de 2 boğada pozitiflik saptanmıştır. Nourollahi-Fard ve ark. (2017) serolojik incelemede dişilerde %22.2, erkeklerde ise %26.3 oranında, Ekşi ve Ütük (2018) ise dişi ve erkeklerde sırasıyla % 10.7 ve % 10.5 seropozitiflik belirlediklerini, ancak istatistiki olarak anlamlı bir fark olmadığını ifade etmişlerdir. Bu çalışmada *N. caninum* seropozitifliği bakımından dişi ile erkekler arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen, seropozitif hayvanların her ikisi de dişi hayvanlardır. Bunun nedeni erkeklere ait örnek sayısının dişilere oranla daha az olmasından, ya da erkek hayvanların genellikle kapalı yetiştiricilik yöntemi ile beslenmesi ve sonkonak köpekler ile dişi hayvanlar kadar ilişkili olmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma *B. besnoiti*'nin Türkiye'de sığırlarda serolojik olarak ortaya konduğu üçüncü çalışmadır. Daha önce Kırıkkale'de yerli ve ithal sığır serumları c-ELISA yöntemi ile incelenmiş ve %26.6. oranında seropozitiflik tespit edilmiştir. Kontrol edilen 60 ithal sığırın 43'ü, 300 yerli sığırın 123'ünde *B. besnoiti* seropozitifliği saptandığı bildirilmiştir (Ocal ve ark. 2016). Özdal ve ark. (2019) Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki bazı illerde yaptıkları çalışmada sığırlarda *B. besnoiti* seropozitifliğini %0-3.7 arasında tespit etmişlerdir. Çalışmamızda %5

oranında *B. besnoitia* seropozitifliği belirlenmiştir. Serumu kontrol edilen tüm hayvanlar yerli hayvanlardır. Çalışmada kullanılan serumlar toplandığı tarihe kadar çalışmanın yapıldığı bölgeye ithal hayvan girişi olmamıştır. Bulaşma şekli düşünüldüğünde ithal hayvanların yaygın olduğu Kırıkkale'ye kıyasla oranın bu kadar düşük olması beklenen bir durumdur.

Besnoitia besnoiti'nin neden olduğu sığır besnoitiosis EFSA (2010) tarafından Avrupa'da ortaya çıkan veya yeniden ortaya çıkan bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Portekiz, İspanya, Fransa'da sığırlarda besnoitiosis salgınları bildirilmiş, bunun yanında İtalya, Almanya, İsviçre ve Yunanistan'da enfeksiyon varlığı tespit edilmiştir (Schaes ve ark. 2009, Alvarez-Garcia ve ark. 2013, Basso ve ark. 2013, Hornok ve ark. 2014, Gazzonis ve ark. 2014, Papadopoulos ve ark. 2014, Waap ve ark. 2014). Son yıllarda yapılan çalışmalarda Türkiye'de İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nden sonra Karadeniz Bölgesinde derikkale, Diyarbakır, Van ve Siirtten sonra yapılan bu çalışmada da seropozitiflik saptanması hastalığın Türkiye'de de hızlı bir yayılım gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Besnoitiosisten her yaştaki hayvanlar etkilenebilmekle birlikte, altı aylıktan küçük hayvanlarda klinik enfeksiyonlar pek alışılmayan durumlardır (Bigalke 1968). Garrido-Castane ve ark. (2019) *B. besnoiti* seropozitifliği açısından yaşlar arasında istatistiki olarak anlamlı bir farkın bulunduğunu ve 3-4 yaş ve ≥ 5 yaşlı hayvanlarda seropozitiflik oranının ≤ 2 yaşlı hayvanlardan daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Lee ve ark. (2017) ≥ 2 yaşlı hayvanlar ile ≤ 1 yaşlı hayvanlar arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğunu ve ≥ 2 yaşlı hayvanlarda daha fazla seropozitiflik saptandığını bildirmişlerdir. Waap ve ark. (2014) Portekiz'de yaptıkları çalışmada en yüksek pozitifliğe 48 aylıktan büyük hayvanlarda rastladıklarını, <24 ay, 24-48 aylık ve 48 aylıktan büyük tüm hayvanlarda seropozitivite saptadıklarını, ancak yaş grupları ile *B. besnoiti* seropozitivitesi açısından anlamlı fark bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda 1-5 yaş arası 4, ≥ 6 yaşlı hayvanlardan birinde *B. besnoiti* seropozitifliği saptanırken, 1 yaşından küçük tüm hayvanlar negatif olarak belirlenmiştir. Ancak yaş grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Besnoitiosisin daha yaşlı sığırlarda daha fazla tespit edilmesinin nedeni, hayvanların yaşı arttıkça parazite maruz kalma olasılığının artmasından kaynaklanıyor olabilir.

Besnoitia besnoiti'nin sığırlara bazı artropodlar yoluyla da nakledilebileceği bildirilmektedir. Bu durum göz önüne alındığında *Glossina*, *Tabanus* ve *Stomoxys* cinsi sinekler konak büyüklüğü, karbondioksit başta olmak üzere hayvan kaynaklı kimyasal maddeler tarafından cezbedilir ve bu cezbediciler hayvan yaşamı boyunca artarlar (Torr ve ark. 2006). Ayrıca genç hayvanlar aktiftir ve sinek sokmalarına daha az maruz kalmalarını sağlayacaktır (Schofield ve Torr 2002). Bu bilgilere göre vektöre daha az maruz kalan genç hayvanlarda *B. besnoiti* yaygınlığının daha az olması beklenen bir durumdur.

Bazı araştırmalar cinsiyetin hastalıkla bir ilişkisinin olmadığını bildirmesine rağmen (Alvarez-Garcia ve ark. 2014, Waap ve ark. 2014), bazı araştırmacılar erkek sığırlardaki seropozitiflik oranının dişi sığırlara göre daha fazla olduğunu (Jacquiet ve ark. 2010, Alvarez-Garcia ve ark. 2013, Lee ve ark. 2017, Garrido-Castane ve ark. 2019), bazı araştırmacılar ise dişi hayvanlarda daha yüksek seroprevalans tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Ashmawy ve Abu-Akkada 2014). Çalışmamızda *B. besnoiti* seroprevalansı dişilerde % 6 olarak tespit edilirken, erkeklerde pozitiflik saptanmamıştır. Ancak dişi ve erkekler arasında *B. besnoiti* seroprevalansı yönünden istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Yapılan tüm çalışmalar dikkate alındığında sığırlarda besnoitiosisin cinsiyetle ilişkisini belirlemek amacıyla daha fazla sayıda çalışma yapılmalıdır.

Sarcocystidae ailesinin soyları arasında çapraz reaktif antijenlerin olduğu ve bunların çapraz reaksiyonlardan sorumlu olabilecekleri bildirilmektedir (Cortes ve ark. 2006a, Fernandez-Garcia ve ark. 2009b, Schares ve ark. 2010). *Besnoitia besnoiti*'nin serolojik olarak yaygınlığının araştırılırken, *Neospora* spp. pozitif bazı hayvanların yanlış seropozitiflikten sorumlu olabileceği ifade edilmiştir. Çalışmamızda örnek alınan hayvanların kanları hem *B. besnoiti* hem de *N. caninum* yönünden test edilmiştir. İncelenen örneklerin hiçbirinde miks enfeksiyon tespit edilmemiştir. Bu durum *B. besnoiti* seropozitif olan hayvanlarda yanlış-seropozitivite olabilmesi durumunu ortadan kaldırmaktadır.

Sonuç olarak bu çalışma Oğuzlar yöresindeki sığırlarda *N. caninum* ve *B. besnoiti* seropozitifliğinin belirlendiği ilk çalışmadır. *Besnoitia besnoiti* Avrupa'da ve dünyanın birçok bölgesinde hızla yayılan bir protozoon etkidir. Bu çalışma ile Türkiye'de *B. besnoiti* İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nden sonra üçüncü defa ortaya konmuştur. Bu nedenle hem yerli hayvanlarımızın hem de besnoitiosis tespit edilen ülkelerden ithal edilen sığırların *B. besnoiti* yönünden de mutlaka kontrol edilmesi hastalığın ülkemizde salgınlar halinde ortaya çıkmasının önlenmesi açısından önem arz etmektedir. Oldukça küçük, hayvan sayısının az olduğu, hem de dışarıya kapalı bir bölgede hem *N. caninum* hem de *B. besnoiti* seropozitifliğinin saptanması bölgenin sığır neosporosisi ve besnoitiosis riski altında olduğunu düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

AÇICI M, BÖLÜKBAŞ CS, PEKMEZCİ GZ, KAYA S, GÜRLER AT, GÜRLER H, GENÇ O, UMUR Ş (2015) Orta Karadeniz Bölgesi ve Sivas ilinde ruminant atıklarında *Toxoplasma gondii* ve *Neospora caninum* enfeksiyonlarının tespiti. 19. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Uluslararası Katılımlı Ekinokokkozis Sempozyumu, 5-9 Ekim, Erzurum, Türkiye, sf:74-75.

ADANIR R, CETIN Y, KOCAMUFTUOĞLU M, KOSE O (2015) Seroprevalance of *Neospora caninum* in cows in Burdur Region: Investigation of its relationship with abortions and infertility. XVII International Congress on Animal Hygiene, 7-11 June, Košice, Slovakia, pp:223-225.

AGUADO-MARTINEZ A (2010) Development and use of an indirect ELISA in an outbreak of bovine besnoitiosis in Spain. *Vet Rec*,166, 818-822.

AGUADO-MARTINEZ A, ALVAREZ-GARCIA G, FEMANDEZ-GARCIA A, RISCO-CASTILLO V, MARUGAN-HEMANDEZ V, ORTEGA-MORA LM (2009) Failure of a vaccine using immunogenic recombinant proteins rNcSAG4 and rNcGRA7 against neosporosis in mice. *Vaccine*, 27, 7331-7338.

AKÇA A, GOKCE HI, GUY CS, MCGARRY JW, WILLIMS DJL (2005) Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in local and imported cattle breeds in the Kars province of Turkey. *Res Vet Sci*, 78, 123-126.

AKÇA A, GÖKÇE Hİ (2003) Kars yöresi yerli ve kültür ırkı ithal sığırlarında *Neospora caninum* seroprevalansı. 13. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Konya, 8-12 Eylül, s.160

AKTAŞ M, ŞAKİ CE, ALTAY K, ŞİMŞEK S, ÜTÜK AE, KÖROĞLU E, DUMANLI N (2005) Doğu Anadolu Bölgesinin bazı illerinde bulunan sığırlarda *Neospora caninum*'un Araştırılması. *Türkiye Parazitol Derg*, 29 (1), 22-25.

ALAN M, CETİN Y, ŞENDAĞ S, AKKAN HA, KARACA M (2011) Seroprevalence of antibodies against *Neospora caninum* in cows in Van province. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2011; 17: 767-71.

- ALMERIA S, LOPEZ-GATIUS F (2013) Bovine neosporosis: Clinical and practical aspects. *Res Vet Sci*, 95, 303-309.
- ALVAREZ-GARCIA G, FERNANDEZ-GARCIA A, AGUADO-MARTINEZ A, SCHARES G, BASSO W, GOLLNICK NS, ORTEGA-MORA LM (2009) Serological diagnosis of bovine besnoitiosis: development of an indirect ELISA and a comparative study with a commercial ELISA. In: 22 st International Conference WAAVP, Calgary (Canada), p.11.
- ALVAREZ-GARCIA G, FERNANDEZ-GARCIA A, GUTIERREZ-EXPOSITO D, RUIZ-SANTA QUITERIA, AGUADO-MARTINEZ A, ORTEGA-MORA LM (2014) Seroprevalence of *Besnoitia besnoiti* infection and associated risk factors in cattle from an endemic region in Europe. *Vet J*, 200, 328–331.
- ALVAREZ-GARCIA G, FREY CF, ORTEGA MORA LM, SCHARES G (2013) A century of bovine besnoitiosis: an unknown disease re-emerging in Europe. *Trends Parasitol*, 29, 407-415.
- ANDERSON ML, ANDRIANARIVO AG, CONRAD PA (2000) Neosporosis in cattle. *Anim Reprod Sci*, 60 (61), 417-431.
- ANDERSON ML, BLANCHARD PC, BARR BC, DUBEY JP, HOFFMAN RL, CONRAD PA (1991) *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc*, 198 (2), 241-244.
- ARMENGOL R, PABON M, SANTOLARIA P, CABEZON O, ADELANTADO C, YANIZ J, LOPEZ-GATIUS F, ALMERIA S (2007) Low seroprevalence of *Neospora caninum* infection associated with the limousin breed in cow-calf herds in Andorra, Europe. *J Parasitol*, 93 (5), 1029-1032.
- ARNAL MC, GUTIERREZ-EXPOSITO D, MARTINEZ-DURAN D, REGIDOR-CERRILLO J, REVILLA M, FERNANDEZ DE LUCO D, JIMENEZ-MELENDEZ A, ORTEGA-MORA LM, ALVAREZ-GARCIA G (2017) Systemic besnoitiosis in a juvenile Roe Deer (*Capreolus capreolus*). *Transbound Emerg Dis*, 64, 8–14.

- ASHMAWY KI, ABU-AKKADA SS (2014) Evidence for bovine besnoitiosis in Egypt first serosurvey of *Besnoitia besnoiti* in cattle and water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Egypt. *Trop Anim Health Prod*, 46, 519–522.
- ASMARE K, REGASSA F, ROBERTSON LJ, SKJERVE E (2013) Seroprevalence of *Neospora caninum* and associated risk factors in intensive or semi-intensively managed dairy and breeding cattle of Ethiopia. *Vet Parasitol*, 193, 85-94.
- ATANASIO-NHACUMBE A, CAVELE A, CALA AC, UZEDA RS, SOUZA BP, GONDIM LFP, RIBEIRO-ANDRADE M, ORNELAS-ALMEIDA MA, DE MATOS CA, MARICOA N (2017) Serological survey of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in cattle and goats from smallholder farms in Angónia, Tete Province, Mozambique. *Af J of Rural Devt*, 2 (2), 303-311.
- AYDIN L (2013) Sığırlarda Neosporosis. In: Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları. Ed. MA ÖZCEL, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No: 24, Meta Basım, İzmir, s:65-70.
- AYINMODE A, AKINSEYE V, SCHARES G, CADMUS S (2017) Serological survey of toxoplasmosis, neosporosis and brucellosis among cattle herds in Oyo State, South-Western Nigeria. *Afr J Infect Dis*, 11 (2), 95-101.
- AYROUD M, LEIGHTON FE, TESSARO SV (1995) The morphology and pathology of *Besnoitia* sp. in reendeer (*Rangifer tarandus tarandus*). *J Wildl Dis*, 31 (3), 319-326.
- BALKAYA I, BASTEM Z, AVCIOGLU H, ONALAN SK (2012) Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle in Eastern Turkey. *Isr J Vet Med*, 67, 109-112.
- BARR BC, ANDERSON ML, BLANCHARD PC, DAFT BM, KINDE H, CONRAD PA (1990) Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. *Vet Pathol*, 27, 354-361.
- BARBER JS, TREES AJ (1996) Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *Vet Rec*, 139, 439-443.

- BÁRTOVÁ E, SEDLAK K, BUDÍKOVÁ M (2015) A study of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibody seroprevalence in healthy cattle in the Czech Republic. *Ann Agric Environ Med*, 22 (1), 32–34.
- BASSO W, LESSER M, GRIMM F, HILBE M, SYDLER T, TRÖSCH L, BRAUN U, DEPLAZES P (2013) Bovine besnoitiosis in Switzerland: Imported cases and local transmission. *Vet Parasitol*, 198: 265-273.
- BASSO W, SCHARES G, GOLLNICK NS, RUTTEN M, DEPLAZES P (2011) Exploring the life cycle of *Besnoitia besnoiti*-experimental infection of putative definitive and intermediate host species. *Vet Parasitol*, 178, 223-234.
- BASSON PA, MCCULLY RM, BIGALKE RD (1970) Observations on the pathogenesis of bovine and antelope strains of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) infection in cattle and rabbits. *Onderstepoort J Vet Res*, 37, 105–126.
- BECK R, STOKOVIC I, PLEADIN J, BECK A (2013) Bovine besnoitiosis in Croatia. Proceedings of the 2nd International Meeting on Apicomplexan Parasites in Farm Animals, Kusadasi, October 31-November 2, Turkey, p: 64.
- BIGALKE RD (1960) Preliminary observation on the mechanical transmission of cyst organisms of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) from a chronically infected bull to rabbits by *Glossina brevipalpis* Newstead, 1910. *J S Afr Vet Assoc*, 31, 37–44.
- BIGALKE RD (1968) New conception of the epidemiological features of bovine besnoitiosis as determined by laboratory investigations. *Onderstepoort J Vet Res*, 35, 138.
- BIGALKE RD (1981) Besnoitiosis and Globidiosis. In: Diseases of Cattle in the Tropics. Ed. M RISTIC, I MCINTYRE, Marunus Nijhoff, The Hague, The Netherlands, p:429-442.
- BIGALKE RD, PROZESKY L (1994) Besnoitiosis. In: Infectious Disease of Livestock with Special Reference to South Africa. Ed. JAW COETZER, GR THOMSON, RC TUSTIN. Oxford University Press, Cape Town, New York, p. 245-252.

- BIYIKOĞLU G, ÖNCEL T, BAĞCI Ö (2003b). Trakya sığırlarında *Neospora caninum*'un seroprevalansı. 13. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Konya, 8-12 Eylül, s:246.
- BJORKMAN C, UGGLA A (1999) Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int J Parasitol*, 29 (10), 1497-1507.
- CABAJ W, CHOROMANKSKI L, RODGERS S, MOSKWA B, MALCZEWSKI A (2000) *Neospora caninum* infections in aborting dairy cows in Poland. *Acta Parasitol*, 45 (2), 113-114.
- CADÉAC C (1884) Identité, de l'Elephantiasis et de l'anasarque du boeuf. Description de cette maladie. *Revue Vétérinaire*, 521, 521-540.
- CAMPERO CM, ANDERSON ML, CONOSCIUTO G, ODRIOZOLA H, BRETSCHNEIDER G, POSO MA (1998) *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in Argentina. *Vet Rec*, 143, 228-229.
- CANATAN HE, POLAT IM, BAYRAMOĞLU R, KUPLULU S, VURAL MR, AKTUG E (2014) Effects of *Neospora caninum* on reproductive performance and the efficacy of treatment with a combination of sulphadiazinetrimethoprim and toltrazuril: a longitudinal field study. *Vet Med*, 59, 22-28.
- CARDOSO JMS, AMAKU M, ARAUJO AJUS, GENNARI SM (2012) *Neospora caninum*: analysis of reproductive parameters in dairy herds in Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci*, 49, 459-464.
- CASTILLO JA, MARCEN JM, ORTEGA-MORA LM, ALVAREZ-GARCIA G (2009) La besnoitiosis bovina, presentada como una enfermedad emergente europea. *Albeitar*, 127, 24-25.
- CAVALCANTE GT, MONTEIRO RM, SOARES RM, NISHI SM, ALVES NETO AF, ESMERINI P de O, SERCUNDES MK, MARTINS J, GENNARI SM (2011) Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed different tissues from naturally infected cattle. *Vet Parasitol*, 179, 220-223.

- CEDILLO CJR, MARTINEZ MJJ, SANTACRUZ AM, BANDA RVM, MORALES SE (2008) Models for experimental infection of dogs fed with tissue from fetuses and neonatalcattle naturally infected with *Neospora caninum*. *Vet Parasitol*, 154, 151-155.
- CELIK HA, KOZAN E, ESER M, YILMAZ O, BIRDANE MK, SARIMEHMETOGLU HO (2013) A research on seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 60, 99-102.
- CERVANTES-VALENCIA ME, HERMOSILLA C, ALCALÁ-CANTO Y, TAPIA G, TAUBERT A, SILVA LMR (2019) Antiparasitic efficacy of curcumin against *Besnoitia besnoiti* tachyzoites in vitro. *Front Vet Sci*, 5, 333. doi: 10. 3389/ fvets. 2018. 00333.
- CORTES HC, LEITAO A, VILA-VICOSA MJ, FERREIRA ML, CAEIRO V, HJERPE CA (2005) Besnoitiosis in bulls in Portugal. *Vet Rec*, 157 (9), 262-264.
- CORTES HC, NUNES S, REIS Y, STAUBLI D, VIDAL R, SAGER H, LEITAO A, GOTTSTEIN B (2006a) Immunodiagnosis of *Besnoitia besnoiti* infection by ELISA and Western blot. *Vet Parasitol*, 141 (3-4), 216-225.
- CORTES HC, REIS Y, WAAP H, VIDAL R, SOARES H, MARQUES I, PEREIRA DA FONSECA I, RANZENDEIRO I, FERREIRA ML, CAEIRO V, SHKAP V, HEMPHILL A, LEITAO A (2006b) Isolation of *Besnoitia besnoiti* from infected cattle in Portugal. *Vet Parasitol*, 141 (3-4), 226-233.
- CORTES HC, REIS Y, GOTTSTEIN B, HEMPHILL A, LEITAO A, MULLER N (2007) Application of conventional and real-time fluorescent ITS1 PCR for detection of *Besnoitia besnoiti* infections in bovine skin biopsies. *Vet Parasitol*, 146 (3-4), 352-356.
- CORTES HC, LEITAO A, GOTTSTEIN B, HEMPHILL A (2014) A review on bovine besnoitiosis: a disease with economic impact in herd health management, caused by *Besnoitia besnoiti* (Franco and Borges, 1916). *Parasitology*, 141, 1406-1417.
- CUTERI V, NISOLI L, PREZIUSO S, ATTILI AR, GUERRA C, LULLA D, TRALDI G (2005) Application of a new therapeutic protocol against *Neospora caninum*-induced abortion in cattle: A field study. *J Anim Vet Adv*, 4 (5), 510.

- CVETOJEVIC D, MILICEVIC V, KURELJUSIC B, SAVIC B (2018) Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cows in Belgrade city area, Serbia. *J Hellenic Vet Med Soc*, 69 (2), 979-983.
- DARIO CEDENO Q, BIBIANA BENAVIDES B (2013) Seroprevalence and risk factors associated to *Neospora caninum* in dairy cattle herds in the municipality of Pasto, Colombia. *Rev MVZ Cordoba*, 18 (1), 3311-3316.
- DAVISON HC, OTTER A, TREES AJ (1999) Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normal calving cattle and aborting cattle. *Int J Parasitol*, 29, 1189-1194.
- DUBEY JP, HARTLEY WJ, LINDSAY DS (1990) Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. *J Am Vet Med Assoc*, 197 (8), 1043-1044.
- DUBEY JP, DOROUGH KR, JENKINS MC, LIDDELL S, SPEER CA, KWOK OCH, SHEN SK (1998) Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. *Int J Parasitol*, 28, 1293-1304.
- DUBEY JP (1999a) Neosporosis- the first decade of research. *Int J Parasitol*, 29, 1485-1488.
- DUBEY JP (1999b) Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol*, 84, 349-367.
- DUBEY JP (2003) Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol*, 41(1), 1-16.
- DUBEY JP, BARR BC, BARTA JR, BJERKAS I, BJÖRKMAN C, BLAGBURN BL, BOWMAN DD, BUXTON D, ELLIS JT, GOTTSSTEIN B, HEMPHILL A, HILL DE, HOWEDK, JENKINS MC, KOBAYASHI Y, KOUDELA B, MARSH AE, MATTSSON JG, MCALLISTER MM, MODRY D, OMATA Y, SIBLEY LD, SPEER CA, TREES AJ, UGGLA A, UPTON SJ, WILLIAMS DJL, LINDSAY DS

(2002) Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int J Parasitol*, 32, 929-946.

DUBEY JP, BUXTON D, WOUDA W (2006) Pathogenesis of bovine neosporosis. *J Comp Pathol*, 134 (4), 267-289.

DUBEY JP, CARPENTER JL, SPEER CA, TOPPER MJ, UGGLA A (1988) Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 192, 1269-1285.

DUBEY JP, JENKINS MC, RAJENDRAN C, MISKA K, FERREIRA LR, MARTINS J, KWOK OCH, CHOUDHARY S (2011) Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol*, 181, 382-387.

DUBEY JP, LINDSAY DS (1996) A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol*, 67, 1-59.

DUBEY JP, SCHARES G (2006) Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet Parasitol*, 140 (1-2), 1-34.

DUBEY JP, SCHARES G (2011) Neosporosis in animals-The last five years. *Vet Parasitol*, 180, 90-108.

DUBEY JP, SCHARES G, ORTEGA-MORA LM (2007) Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev*, 20 (2), 323-367.

DUBEY JP, SHKAP V, PIPANO E, FISH L, FRITZ DL (2003) Ultrastructure of *Besnoitia besnoiti* tissue cysts and bradyzoites. *J Eukaryot Microbiol*, 50(4), 240-244.

DUBEY JP, VAN WILPE E, BLIGNAUT DJC, SCHARES G, WILLIAMS JH (2013) Development of early tissue cysts and associated pathology of *Besnoitia besnoiti* in a naturally infected bull (*Bos taurus*) from South Africa. *J Parasitol*, 99, 459-466.

- DUMANLI N, AKTAŞ M (2010) Toxoplasmatidae (*Toxoplasma*, *Neospora*). In: Veteriner Protozooloji. Ed. N DUMANLI ZK, KARAER, Medisan Yayınevi, Ankara, s:119-135.
- EFSA (2010) Bovine besnoitiosis: an emerging disease in Europe. European food safety authority. *EFSA J*, 8,1499-1514.
- ESTEBAN-GIL A, CALVETE C, CASASUS I, SANZ A, FERRER J, PERIS MP, MARCEN-SERAL JM, CASTILLO JA (2017) Epidemiological patterns of bovine besnoitiosis in an endemic beef cattle herd reared under extensive conditions. *Vet Parasitol*, 236,14–21.
- ESKI F, UTUK AE (2018) Detection of Anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle in Adana province of Turkey. *Van Vet J*, 29 (2), 93-99.
- ESKI F, GUNAYDIN E, PEKKAYA S, CETIN N, UTUK AE (2016) Detection of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Chlamydophila abortus* and *Coxiella burnetti* antibodies in aborted Holstein Cows. 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress, 26-28 October, Adana, Turkey, p. 4550.
- FEREIG RM, ABOULAILA MR, MOHAMED SGA, MAHMOUD HYAH, ALI AO, ALI AF, HILALI M, ZAID A, MOHAMED AEA, NISHIKAWA Y (2016) Serological detection and epidemiology of *Neospora caninum* and *Cryptosporidium parvum* antibodies in cattle in southern Egypt. *Acta Tropica*, 162, 206-211.
- FERNANDEZ-GARCIA A, RISCO-CASTILLO V, PEDRAZA-DIAZ S, AGUADO-MARTINEZ A, ALVAREZ-GARCIA G, GOMEZ-BAUTISTA M, COLLANTES-FERNANDEZ E, ORTEGA-MORA L (2009a) First isolation of *Besnoitia besnoiti* from a chronically infected cow in Spain. *J Parasitol*, 95(2), 474-476.
- FERNANDEZ-GARCIA A, ALVAREZ-GARCIA G, RISCO-CASTILLO V, AGUADO-MARTINEZ A, MARCEN JM, ROJO-MONTEJO S, CASTILLO JA, ORTEGA-MORA LM (2010) Development and use of an indirect ELISA in outbreak of bovine besnoitiosis in Spain. *Vet Rec*, 166, 818-822.
- FRANCO EE, BORGES I (1916) Sur la sarcosporidiose Bovine. *Arquivos do Instituto Bacteriologico Câmara Pestana*, 4, 269–289.

FRENKEL JK, SMITH DD (2003) Determination of the genera of cyst-forming coccidia. *Parasitol Res*, 91(5), 384-389.

FREY CF, GUTIÉRREZ-EXPÓSITO D, ORTEGA-MORA LM, BENAVIDES J, MARCEN JM, CASTILLO JA, CASASUS I, SANZ A, GARCIA-LUNAR P, ESTEBAN-GIL A, ÁLVAREZ-GARCIA G (2013). Chronic bovine besnoitiosis: Intra-organ parasite distribution, parasite loads and parasite-associated lesions in subclinical cases. *Vet Parasitol*, 197, 95–103.

GARCIA-LUNAR P, ORTEGA-MORA LM, SCHARES G, GOLLNICK NS, JACQUIET P, GRISEZ C, PREVOT F, FREY CF, GOTTSTEIN B, ÁLVAREZ-GARCIA G (2013) An inter-laboratory comparative study of serological tools employed in the diagnosis of *Besnoitia besnoiti* infection in bovines. *Transbound Emerg Dis*, 60, 59–68.

GARCIA-VAZQUEZ Z, CRUZ-VAZQUEZ C, MEDINA-ESPINOZA L, GARCIA-TAPIA D, CHAVARMIA-MARTINEZ B (2002) Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, Mexico. *Vet Parasitol*, 106, 115-120.

GARRIDO-CASTANE I, ROMERO AO, ESPUNY JC, HENTRICH B, BASSO W (2019) *Besnoitia besnoiti* seroprevalence in beef, dairy and bullfighting cattle in Catalonia (north-eastern Spain): A cross-sectional study. *Parasitol Int*, 69, 71-74.

GAVREA RR, IOVU A, LOSSON B, COZMA V (2011) Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle from North-West and centre of Romania. *Parasite*, 18, 349-351.

GAZZONIS AL, ALVAREZ-GARCIA G, ZANZANI SA, GARIPPA G, ROSSI L, MAGGIORA M, DINI V, INVERNIZZI A, LUINI M, TRANQUILLO VM, ORTEGA MORA L, MANFREDI MT (2014) *Besnoitia besnoiti* among cattle in insular and northwestern Italy: endemic infection of isolated outbreaks?. *Parasit Vectors*, 7:585.

GENTILE A, MILITERNO G, SCHARES G, NANNI A, TESTONI S, BASSI P, GOLLNICK NS (2012) Evidence for bovine besnoitiosis being endemic in Italy-First in vitro isolation of *Besnoitia besnoiti* from cattle born in Italy. *Vet Parasitol*, 184, 108–115.

- GEORGIEVA DA, PRELEZOV PN, KOINARSKI VTS (2006) *Neospora caninum* and neosporosis in animals- A review. *BJVM*, 9 (1), 1-26.
- GHALMI F, CHINA B, GHALMI A, HAMMITOUCHE D, LOSSON B (2012) Study of the risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in Algerian cattle populations. *Res Vet Sci*, 93, 655-661.
- GHANEM ME, SUZUKI T, AKITA M, NISHIBORI MM (2009) *Neospora caninum* and complex vertebral malformation as possible causes of bovine fetal mummification. *Can Vet J*, 50, 389–392.
- GHAREKHANI J, HADDADZADEH H, BAHONAR A (2014) Prevalence of immunoglobulin G (Ig G) antibody to *Neospora caninum* in dairy cattle of Hamedan province, West of Iran. *Vet Res Forum*, 5 (2) 149 -152.
- GIBNEY EH, KIPAR A, ROSBOTTOM A, GUY CS, SMITH RF, HETZEL U, TREES AJ, WILLIAMS DJL (2008) The extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *Neospora caninum* infection in early and late gestation correlates with foetal death. *Int J Parasitol*, 38, 579–588.
- GOLDMAN M, PIPANO E (1983) Serological studies on bovine besnoitiosis in Israel. *Trop Anim Hlth Prod*, 15, 32-38.
- GOLLNICK NS, SCHARR JC, SCHARES G, LANGENMAYER MC (2015) Natural *Besnoitia besnoiti* infections in cattle: chronology of diseases progression. *BMC Vet Res*, 11, 35.
- GONDIM LFP (2006) *Neospora caninum* in wildlife. *Trends Parasitol*, 22 (6), 247-52.
- GONDIM LFP, MCALLISTER MM, PITT WC, ZEMLICKA DE (2004a) Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol*, 34, 159-161.
- GONDIM LFP, SARTOR IF, HASEGAWA M, YAMANE I (1999) Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet Parasitol*, 86, 71-75.

- GOODSWEN SJ, KENNEDY PJ, ELLIS JT (2013) A review of the infection, genetics and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. *Infect Genet Evol*, 13, 133-150.
- GUTIERREZ-EXPOSITO D, ARNAL MC, MARTINEZ-DURAN D, REGIDOR-CERRILLO J, REVILLA M, FERNANDEZ DE LUCO D, JIMENEZ-MELELENDEZ A, CALERO-BERNAL R, HABELA MA, GARCIA-BOCANEGRA I, ARENAS-MONTES A, ORTEGA-MORA LM, ALVAREZ-GARCIA G (2016) The role of wild ruminants as reservoirs of *Besnoitia besnoiti* infection in cattle. *Vet Parasitol*, 223,7-13.
- GUTIERREZ-EXPOSITO D, FERRE I, ORTEGA-MORA LM, ALVAREZ-GARCIA G (2017) Advances in the diagnosis of bovine besnoitiosis: current options and applications for control. *Int J Parasitol*, 47, 737-751.
- HAERDI C, HAESSIG M, SAGER H, GREIF G, STAUBLI D, GOTTSTEIN B (2006) Humoral immune reaction of newborn calves congenitally infected with *Neospora caninum* and experimentally treated with toltrazuril. *Parasitol Res*, 99, 534-540.
- HEMPHILL A (1999) The host-parasite relationship in neosporosis. *Adv Parasitol*, 43, 47-104.
- HORNOK S, FEDAK A, BASKA F, HOFMANN-LEHMANN R, BASSO W (2014) Bovine besnoitiosis emerging in Central-Eastern Europe, Hungary. *Parasit Vectors*, 7:20.
- HOSSEININEJAD M, MAHZOUNIEH M, SHAMS ESFANDABADI (2017) *Neospora caninum* suspects as one of the most important causes of abortion in large dairy farms in Isfahan, Iran. *Iran J Parasitol*, 12 (3), 408-412.
- HUONG LTT, LJUNGSTROM BL, UGGLA A, BJORKMAN C (1998) Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. *Vet Parasitol*, 75, 53-57.

- HUSSIEN MO, ELFAHAL AM, ENAN KA, NOHAMMED MS, IBRAHIM AM, TAHA KM, EL-HUSSEIN AM (2012) Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in Sudan. *Vet World*, 5 (8), 465-468.
- IBRAHIM AME, ELFAHAL AM, EL HUSSEIN ARM (2012) First report of *Neospora caninum* infection in cattle in Sudan. *Trop Anim Health Prod*, 44, 769-772.
- ICA A, YILDIRIM A, DUZLU O, INCI A (2006) Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in the region of Kayseri. *Turkiye Parazitol Derg*, 30, 92-4.
- IMRE K, MORARIU S, ILIE MS, IMRE M, FERRARI N, GENCHI C, DARABUS G (2012) Serological survey of *Neospora caninum* infection in cattle herds from western Romania. *J Parasitol*, 98 (3), 683-685.
- INNES EA (2007) The host-parasite relationship in pregnant cattle infected with *Neospora caninum*. *Parasitology*, 134, 1903-1910.
- INNES EA, ANDRIANARIVO AG, BJORKMAN C, WILLIAMS DJL, CONRAD PA (2002) Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitol*, 18, 497-504.
- INPANKAEW T, JITTAPALAPONG S, MITCHELL TJ, SUNUNTA C, IGARASHI I, XUAN X (2014) Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cows Northern provinces, Thailand. *Acta Parasitologica*, 59 (2), 305-309.
- JACOBSON LS, JARDINE JE (1993) *Neospora caninum* infection in three Labrador littermates. *J S Afr Vet Assoc*, 64 (1), 47-51.
- JACQUIET P, LIENARD E, FRANC M (2010) Bovine besnoitiosis: epidemiological and clinical aspects. *Vet Parasitol*, 174, 30-36.
- JARDINE JE (1996), The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dogs: absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin. *Vet Parasitol*, 62, 231-240.

KARATEPE B, KARATEPE M (2016) Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in Nigde province, Turkey. *Israel J Vet Med*, 71 (1), 39-42.

KAYA S, KURT M, AÇICI M, BÖLÜKBAŞ CS, GÜRLER AT, UMUR Ş (2011) Samsun yöresinde brucellosis yönünden negatif olan sığırlarda *Neospora caninum* seropozitifliği. 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu Paraziter Hastalıklar Sempozyumu, 4-10 Eylül, Kars-Türkiye, sf: 220.

KIM JH, LEE JK, HWANGE K, KIM DY (2002) Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Korean native beef cattle. *J Vet Med Sci*, 64, 941-943.

KOVALCZYK SJ, CZOPOWICZ M, WEBER CN, MULLER E, WITKOWSKI L, KABA J (2016) Herd-level seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cattle in central and northeastern Poland. *Acta Parasitol*, 61 (1), 63-65.

KRAMER AM, WOUDA W, KOOISTRA HS (2000) Clinical neosporosis in the dog: a review. *Tijdschr Diergeneeskd*, 125 (20), 609-613.

KRITZNER S, SAGER H, BLUM J, KREBBER R, GREIF G, GOTTSTEIN BB (2002) An explorative study to assess the efficacy of Toltrazuril-sulfone (Ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 1, 4.

KUL O, KABAKCI N, YILDIZ K, OCAL N, KALENDER H, ILKME NA (2009) *Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle: The first clinical neosporosis report in Turkey. *Vet Parasitol*, 159, 69-72.

KUL O (2012) Epidemiology and pathogenesis of *Neospora caninum* infection: Special emphasis to neosporosis status of Turkey. *Animal Health, Prod and Hyg*, 1 (2), 70-79.

KUMI-DIAKA J, WILSON S, SANNUSI A, NJOKU CE, OSORU DIK (1981) Bovine besnoitiosis and its effect on the male reproductive system. *Theriogenology*, 16, 523-530.

- KURTDEDE A, KUPLULU S, URAL K, CINGI CC, GUZEL M, KARAKURUM MC, HAYDARDEDEOGLU AE (2006) Serodiagnosis of bovine neosporosis with immunocombassay in Ankara Region. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 53, 207-209.
- LANDMANN JK, JILLELLA D, O'DONOGHUE PJ, MCGOWAN MR (2002) Confirmation of the prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle by the use of embryo transfer. *Aust Vet J*, 80, 502-503.
- LANGENMAYER MC, GOLLNICK NS, MAJZOUB-ALTWECK M, SCHARR JC, SCHARES G, HERMANNNS W (2015a). Naturally acquired bovine besnoitiosis: Histological and immunohistochemical findings in acute, subacute, and chronic disease. *Vet Pathol*, 52, 476-488.
- LANGENMAYER M, GOLLNICK N, SCHARR J, SCHARES G, HERRMANN D, MAJZOUB-ALTWECK M, HERMANNNS W (2015b). *Besnoitia besnoiti* infection in cattle and mice: Ultrastructural pathology in acute and chronic besnoitiosis. *Parasitol Res*, 114, 955-963.
- LEE SH, EO KY, JUNG BY, KWAK D, KWON OD (2017) Seroprevalence and risk factors of *Besnoitia besnoiti* infection in Korean cattle. *Acta Vet Hung*, 65 (4), 510-516.
- LEIGHTON FA, GAJADHAR AA (2001) *Besnoitia* spp. and besnoitiosis. In: Parasitic Diseases of Wild Mammals. Ed. ES WILLIAMS, IK BARKER. Third Edition. Iowa State University Press/ Ames, Iowa, p: 468-477.
- LIENARD E, POP L, PREVOT F, GRISEZ C, MALLET V, RAYMOND-LETRON I, BOUHSIRA E, FRANC M, JACQUIET P (2015) Experimental infections of rabbits with proliferative and latent stages of *Besnoitia besnoiti*. *Parasitol Res*, 114, 3815-3826.
- LIENARD E, SALEM A, GRISEZ C, PREVOT F, BERGEAUD JP, FRANC M, GOTTSTEIN B, ALZIEU JP, LAGALISSE Y, JACQUIET P (2011) A longitudinal study of *Besnoitia besnoiti* infections and seasonal abundance of *Stomoxys calcitrans* in a dairy cattle farm of southwest France. *Vet Parasitol*, 177(1-2), 20-27.

- LIENARD E, SALEM A, GRISEZ C, PREVOT F, BLANCHARD B, BOUHSIRA E, FRANC M (2013) Development of a protocol testing the ability of *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) to transmit *Besnoitia besnoiti* (Henry, 1913) (Apicomplexa: Sarcocystidae). *Parasitol Res*, 112,479-486.
- LINDSAY DS, DUBEY JP (1989) Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am J Vet Res*, 50 (11), 1981-1983.
- LINDAYS DS, KELLY EJ, MCKOWN RD, STEIN FJ, PLOZER J, HERMAN J, BLAGBURN BL, DUBEY JP (1996) Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. *J Parasitol* 82 (4), 657-659.
- LINDSAY DS, RIPPEY NS, COLE RA, PARSON LC, DUBEY JP, TIDWELL RR, BLAGBURN BL (1994) Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells. *Am J Vet Res*, 55, 976-981.
- LUCCHESI L, BENKIRANE A, HAKIMI I, EL IDRISSE A, NATALE A (2016) Seroprevalence study of the main causes of abortion in dairy cattle in Morocco. *Vet Ital*, 52 (1), 13-19.
- LUO H, LI K, ZHANG H, LAN Y, GAN P, SHAHZAD M, MEHMOOD K, XIONG X, WANG J (2018) *Neospora caninum* infection in cattle, cows and goats in Jiangxi province, China. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 49 (4), 549-552.
- MANUALI E, LEPRI E, SALAMIDA S, D'AVINO N, MANGILI P, VITELLOZZI G, GRELLONI V, FILIPPINI G (2011) An outbreak of bovine besnoitiosis in beef cattle born in Central Italy. *Transbound Emerg Dis*, 58 (5), 464-467.
- MAZUZ ML, HAYNES R, SHKAP V, FISH L, WOLLEKOMIRSKY R, LEIBOVICH B, MOLAD T, SAVITSKY I, GOLENSER J (2012) *Neospora caninum*: In vivo and in vitro treatment with artemisone. *Vet Parasitol*, 87, 99-104.
- MCALLISTER MM, DUBEY JP, LINDAYS DS, JOLLEY WR, WILLS RA, MCGUIRE AM (1998) Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol*, 28, 1473-1478.

- MCCULLY RM, BASSON PA, VAN NIEKERK JW, BIGALKE RD (1966) Observations on Besnoitia cysts in the cardiovascular system of some wild antelopes and domestic cattle. *Onderstepoort J Vet Res*, 33, 245–276.
- MEENAKSHI, SANDHU KS, BALL MS, KUMAR H, SHARMA S, SIDHU PK, SREEKUMAR C, DUBEY JP (2007) Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle and water buffaloes in India. *J Parasitol*, 93 (6), 1374-1377.
- MEHLHORN H, KLIMPEL S, SCHEIN E, HEYDORN AO, AL-QURAI SHY S, SELMAIR J (2009) Another African disease in Central Europa: Besnoitiosis of cattle. 1.Light and electron microscopical study. *Parasitol Res*, 104(4),861-868.
- MELO LRB, FEITOSA TF, VILELA VLR, ATHAYDE ACR, AZEVEDO SS, PENA HFJ (2017) Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle and dogs from the Agreste region of the State of Paraiba. *Acta Vet Bras*, 11, 57-62.
- MITREA IL, ENACHESCU V, RADULESCU R, IONITA M (2012) Seroprevalence of *Neospora caninum* infection on dairy cattle in farms from southern Romania. *J of Parasitology*, 98 (1), 69-72.
- MOORE DP (2005) Neosporosis in South America. *Vet Parasitol*, 127, 87-97.
- MOORE DP, ECHAIDE I, VEMA AE, LEUNDA MR, CANO A, PEREYRA S, ZAMORANO PI, ODEON AC, CAMPERO CM (2011) Immune response to *Neospora caninum* native antigens formulated with immune stimulating complexes in calves. *Vet Parasitol*, 175, 245-251.
- MOR N, AKÇA A (2012) Epidemiological studies upon *Neospora caninum* in cattle and dogs in the province of Kars, Turkey: A cross-sectional study. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 18, A193-A199.
- MOR N, ÇELEBİ Ö, BÜYÜK F, DEMİR P (2011) Kars yöresinde abort yapan ineklerde neosporozis ve brusellozisin seroprevalansının araştırılması ve ekonomik kaybın belirlenmesi. 17. Ulusal Parazitoloji Kongresi ve Kafkasya ve Ortadoğu Paraziter Hastalıklar Sempozyumu, 4-10 Eylül, Kars-Türkiye, sf: 221.

MULLER J, MANSER V, HEMPHILL A (2019) *In vitro* treatment of *Besnoitia besnoiti* with the naphto-quinone buparvaquone results in marked inhibition of tachyzoite proliferation, mitochondrial alterations and rapid adaptation of tachyzoites to increased drug concentrations. *Parasitology*, 146 (1), 112-120.

NASIR A, LANYON SR, SCHARES G, ANDERSON ML, REICHEL MP (2012) Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in South Australian beef and dairy cattle. *Vet Parasitol*, 186, 480-485.

NEMATOLLAHI A, JAAFARI R, MOGHADDAM GH (2011) Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cattle in Tabriz, Northwest Iran. *Iranian J Parasitol*, 6, 95-98.

NEUMAN M (1972a) Serological survey of *Besnoitia besnoiti* (Marotel 1912) infection in Israel by immunofluorescence. *Zentralblatt Veterinarmedizin Reihe B*, 19, 391-396.

NEUMANN M (1972b). Pathological changes causing sterility in bulls affected with *Besnoitia besnoiti*. *J Protozool*, 19, 54.

NOBEL TA, NEUMANN M, KLOPPER U, PERL S (1981). Cysts of *Besnoitia besnoiti* in genital organs of the cow. *Bull Acad Med Vet France*, 50, 569-574.

NOUROLLAHI FARD SR, KHALILI M, AMINZADEH A (2008) Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in cattle in Kerman province, South East Iran. *Vet Arhiv*, 78, 253-259.

OCAL N, ATMACA HT, ALBAY MK, DENIZ A, KALENDER H, YILDIZ K, KUL O (2014) A new approach to *Neospora caninum* infection epidemiology: neosporosis in integrated and rural dairy farms in Turkey *Turk J Vet Anim Sci*, 38, 161-168.

OCAL N, YAGCI BB, GOKPINAR S (2016) Investigation as clinical and laboratory of besnotiosis in cattle. I. International Congress on Advances in Veterinary Sciences&Technics. Sarajevo, Bosnia-Herzegovia, 25-29 August, p:109.

OĞUZLAR BELEDİYESİ. (<http://oguzlar.bel.tr/ilcemiz/ilcemizin-tarihi-496> Erişim tarihi: 19.03.2019)

OLIAS P, SCHADE B, MEHLHORN H (2011) Molecular pathology, taxonomy and epidemiology of *Besnoitia* species (Protozoa: Sarcocystidae). *Infect Genet Evol*, 11 (7), 1564-1576.

ONCEL T, BIYIKOĞLU G (2003) Sakarya yöresi sut sığırlarında *Neosporosis caninum*. *Uludag Univ J Fac Vet Med*, 22, 87-89.

OSAWA T, WASTLING J, MALEY S, BUXTON D, INNES EA (1998) A multiple Antigen ELISA to detect *Neospora*-specific antibodies in bovine sera, bovine foetal fluids, ovine and caprine sera. *Vet Parasitol*, 79, 19-34.

OZKARACA M, IREHAN B, PARMAKSIZ A, ITIK EKINCI A, COMAKLI S (2017) Determination of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in aborted bovine foetuses by duplex PCR, immunohistochemistry and immunofluorescence methods. *Med Weter*, 73 (6), 346-351.

ÖZDAL N, OĞUZ B, ORUNÇ KILINÇ Ö, KARAKUŞ A, DEĞER S (2019) Prevalence of ELISA-detected specific antibodies against *Besnoitia besnoiti* in cattle of the Eastern and Southeastern Anatolian regions, Turke. *IJVR*, 20 (2), 143-146.

PAPADOPOULOS E, ARSENOS G, PTOCHOS S, KATSOULOS P, OIKONOMOU G, KARATZIA MA, KARATZIAS H (2014) First report of *Besnoitia besnoiti* seropositive cattle in Greece. *J Hellenic Vet Med Soc*, 65, 115-120.

PARE J, THURMOND MC, HIETALA SK (1997) *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J Parasitol*, 83, 82-87.

PISKIN FC, UTUK AE (2009) Prevalence of *Neospora caninum* in cows with stillbirth and abortion. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 20, 23-26.

POLS J (1960) Studies on bovine besnoitiosis with special reference to the aetiology. *Onderstepoort J Vet Res*, 28, 265-356.

- QUINTANILLA-GOZALO A, PEREIRA-BUENO J, TABARES E, INNES EA, GONZALEZ-PANIELLO R, ORTEGA-MORA LM (1999) Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. *Int J Parasitol*, 29, 1201-1208.
- RABAGO-CASTRO JL, JASSO-OBREGON JO, ZERTUCHE-RODRIGUEZ JL, SÁNCHEZ-MARTINEZ JG, LOREDO-OSTI J, DOMINGUEZ-MUNOZ MA (2017) Detection of *Neospora caninum* antibodies in beef cattle in Tamaulipas, Mexico. Case report. *Austral J Vet Sci*, 49, 205-207.
- REDIGOR-CERRILLO J, ARRANZ-SOLIS D, BENAVIDES J, GOMEZ-BAUTISTA M, CASTRO HERMIDA JA, MEZO M, PEREZ V, ORTEGA-MORA LM, GONZALEZ-WARLETA M (2014) *Neospora caninum* infection during early pregnancy in cattle: how the isolate influences infection dynamics, clinical outcome and peripheral and local immune responses. *Vet Res*, 45, 10.
- REICHEL MP (2000a) *Neospora* infection in New Zealand. *Surveillance*, 27 (2), 16-18.
- REICHEL MP (2000b) *Neospora caninum* infections in Australia and New Zealand. *Aust Vet J*, 78 (4), 258-261.
- REICHEL MP, ELLIS JT (2009) *Neospora caninum*—How close are we to development of an efficacious vaccine that prevents abortion in cattle?. *Int J Parasitol*, 39, 1173–1187.
- REICHEL MP, MCALLISTER MM, POMROY WE, CAMPERO C, ORTEGA-MORA LM, ELLIS J (2014) Control options for *Neospora caninum*—is there anything new or are we going backwards? *Parasitology*, 25, 1-16.
- REIS Y, CORTES H, VISEU MELO L, FAZENDEIRO I, LEITAO A, SOARES H (2006) Microtubule cytoskeleton behavior in the initial steps of host cell invasion by *Besnoitia besnoiti*. *FEBS Letters*, 580, 4673-4682.
- RINALDI L, MAURELLI MP, MUSELLA V, BOSCO A, CORTES H, CRINGOLI G (2013) First cross-sectional serological survey on *Besnoitia besnoiti* in cattle in Italy. *Parasitol Res*, 112, 1805–1807.

- ROJO-MONTEJO S, COLLANTES-FERNANDEZ E, REGIDOR-CERRILLO J, RODRIGUEZ-BERTOS A, PRENAFETA A, GOMEZ-BAUTISTA M, ORTEGA-MORA LM (2011) Influence of adjuvant and antigen dose on protection induced by an inactivated whole vaccine against *Neospora caninum* infection in mice. *Vet Parasitol*, 175, 220-229.
- ROSTAHER A, MUELLER RS, MAJZOUB M, SCHARES G, GOLLNICK NS (2010) Bovine besnoitiosis in Germany. *Vet Dermatol*, 21, 329–334.
- RYAN EG, LEE A, CARTY C, O'SHAUGHNESSY J, KELLY P, CASSIDY JP, SHEEHAN M, JOHNSON A, DE WALL T (2016) Bovine besnoitiosis (*Besnoitia besnoiti*) in an Irish dairy herd. *Vet Rec*, 178 (24), 608. doi: 10.1136/vr.103683.
- SAMBO SJ, IBRAHIM NDG, ESIEVO KAN, KAZEEM HM (2014) Prevalence of *Besnoitia besnoiti* antibodies in bovine sera and milk in Northern Nigeria. *SJVS*, 12 (1), 29-35.
- SANUSSI A (1991) A simple field diagnostic smear test for bovine besnoitiosis. *Vet Parasitol*, 39 (1-2), 185-188.
- SAVOVIC M, LALOSEVIC V, SIMIN S, PAVICIC L, BOBOS S (2012) Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cows with reproductive disorders in Vojvodina Province, Serbia. *Lucrări Științifice Medicină Veterinară Timișoara*, XLV(3), 161-166.
- SCHARS G, BASSO W, MAJZOUB M, CORTES HC, ROSTAHER A, SEMAIR J, HERMANN S, CONRATHS FJ, GOLLNICK NS (2009) First in vitro isolation of *Besnoitia besnoiti* from chronically infected cattle in Germany. *Vet Parasitol*, 163 (4), 315-322.
- SCHARS G, BASSO W, MAJZOUB M, ROSTAHER A, SCHARR JC, LANGENMAYER MC, SELMAIR J, DUBEY JP, CORTÉS HC, CONRATHS FJ, HAUPT T, PURRO M, RAEBER A, BUHOLZER P, GOLLNICK NS (2011a) Evaluation of a commercial ELISA for the specific detection of antibodies against *Besnoitia besnoiti*. *Vet Parasitol*, 175, 52–59.
- SCHARS G, LANGENMAYER MC, SCHARR JC, MINKE L, MAKSIMOV P, MAKSIMOV A, SCHARS S, BARWALD A, BASSO W, DUBEY JP,

CONRATHS FJ, GOLLNICK NS (2013) Novel tools for the diagnosis and differentiation of acute and chronic bovine besnoitiosis. *Int J Parasitol*, 43, 143–154.

SCHARES G, MAKSIMOV A, BASSO W, MORE G, DUBEY JP, ROSENTHAL B, MAJZOUB M, ROSTAHER A, SELMAIR J, LANGENMAYER MC, SCHARR JC, CONRATHS FJ, GOLLNICK NS (2011b) Quantitative real time polymerase chain reaction assays for the sensitive detection of *Besnoitia besnoiti* infection in cattle. *Vet Parasitol*, 178, 208-216.

SCHOFIELD S, TORR SJ (2002) A comparison of the feeding behaviour of tsetse and stable flies. *Med Vet Entomol*, 16, 177–185.

SCHULZ KCA (1960) A report on naturally acquired besnoitiosis in bovines with special reference to its pathology. *J S Afr Vet Med Assoc*, 31, 21–35.

SENGUPTA PP, BALUMAHENDIRAN M, RAGHAVENDRA AG, HONNAPPA TG, GAJENDRAGAD MR, PRABHUDAS K (2013) Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dairy cattle and water buffaloes and associated abortions in the plateau of Southern Peninsular India. *Trop Anim Health Prod*, 45, 205-210.

SEVGİLİ M, ALTAŞ MG, KESKİN O (2005) Şanlıurfa yöresi sığırlarında *Neospora caninum*'un seroprevalansı. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 127-130.

SEVİNÇ F (2013) Sığırlarda Besnoitiosis, In: Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları Cilt I. Ed. MA ÖZCEL, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları No: 24, Meta Basım, İzmir, s:71-74.

STROHBUSCH M, MULLER N, HEMPHILL A, KREBBER R, GREIF G, GOTTSTEIN B (2009) Toltrazuril treatment of congenitally acquired *Neospora caninum* infection in newborn mice. *Parasitol Res*, 104, 1335–1343.

SYSTEMA NATURAE (2000a) [http:// taxonomicon. taxonomy. nl/ TaxonTree.aspx?id=637468&src =0](http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?id=637468&src=0), 28.05.2019.

SYSTEMA NATURAE (2000b) [http:// taxonomicon. taxonomy. nl/ TaxonTree.aspx?id=651&src =0](http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?id=651&src=0), 28.05.2019.

TALAFHA AQ, AL-MAJALI AM, ABABNEH MM, ABUTARBUSH SM (2015) Epidemiologic study on *Besnoitia besnoiti* infection in dairy herds in Jordan. *Parasitol Res*, 114, 2491–2497.

THOMPSON G, CANADA N, DO CARMO TOPA, M, SILVA E, VAZ F, ROCHA A (2001) First Confirmed Case of *Neospora caninum* associated abortion outbreak in Portugal. *Reprod Dom Anim* 36, 309-312.

TOOLAN DP (2003) *Neospora caninum* abortion in cattle: a clinical perspective. *Irish Vet J*, 56, 404-410.

TORR SJ, MANGWIRO TNC, HALL DR (2006) The effects of host physiology on the attraction of tsetse (Diptera: Glossinidae) and Stomoxys (Diptera: Muscidae) to cattle. *Bull Entomol Res*, 96,71–84.

TREES AJ, WILLIAMS DJL (2005) Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitol*, 21, 558-561.

TUZCU M, ÇİFTÇİ MK (2000) Neosporozis. *Veterinarium* 11 (1-2), 49-53.

TÜRKİYE CUMHURİYETİ KÜLTÜR VE TURİZM BAKANLIĞI, ÇORUM İL KÜLTÜR VE TURİZM MÜDÜRLÜĞÜ. <http://www.corumkulturturizm.gov.tr>, Erişim Tarihi:19.03.2019.

UZEDA RS, ANDRADE MR, CORBELLINI LG, ANTONELLO AM, VOGEL FS, GONDIM LFP (2014) Frequency of antibodies against *Besnoitia besnoiti* in Brazilian cattle. *Vet Parasitol*, 199, 242-246.

VANHOUDT A, PARDON B, DE SCHUTTER P, BOSSELER L, SARRE C, VERCRUYSSSE J, DEPREZ P (2015) First confirmed case of bovine besnoitiosis in an imported bull in Belgium. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr*, 84, 205-211.

- VANLEEUEWEN JA, GREENWOOD S, CLARK F, ACORN A, MARKHAM F, MCCAR-
RON J, O'HANDLEY R (2011) Monensin use against *Neospora caninum* challenge
in dairy cattle. *Vet Parasitol*, 175, 372–376.
- VANLEEUEWEN JA, HADDAD JP, DOHOO IR, KEEFE GP, TIWARI A, SCOTT HM
(2010a) Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in randomly
sampled Canadian dairy cows and herds. *Prev Vet Med*, 93, 129-138.
- VANLEEUEWEN JA, HADDAD JP, DOHOO IR, KEEFE GP, TIWARI A, TREMBLAY R
(2010b) Associations between reproductive performance and seropositivity for bovine
leukemia virus, bovine viral-diarrhea virus, *Mycobacterium avium* subspecies
paratuberculosis and *Neospora caninum* in Canadian dairy cows. *Prev Vet Med*, 94,
54-64.
- VARGAS-NINO A, VARGAS J, PARRA-MARTIN JA, VASQUEZ M, GONGORA A,
MOGOLLON-WALTERO E (2018) Serological status of IBR, BVD, leucosis,
Leptospira and *Neospora caninum* in bovine females of the department of Santander,
Colombia. *Rev MVZ Córdoba*, 23(2), 6671-6680.
- VURAL G, AKSOY E, BOZKIR M, KUCUKAYAN U, ERTURK A (2006)
Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle herds in central Anatolia, Turkey.
Veterinarski Arhiv, 76(4), 343-349.
- WAAP H, NUNES T, CORTES H, LEITAO A, VAZ Y (2014) Prevalence and geographic
distribution of *Besnoitia besnoiti* infection in cattle herds in Portugal. *Parasitol Res*,
113, 3703-3711.
- WALDNER CL, HENDERSON J, WU JTY, COUPLAND R, CHOW EYW (2001)
Seroprevalence of *Neospora caninum* in beef cattle in Northern Alberta. *Can Vet J*,
42, 130-132.
- WILLIAMS DJL, MCGARRY J, GUY F, BARBER J, TREES AJ (1997) Novel ELISA for
detection of *Neospora*-specific antibodies in cattle. *Vet Record*, 140, 328-331.

- WILLIAMS DJL, GUY CS, SMITH RF, GUY F, MCGARRY JW, MCKAY JS, TREES AJ (2003) First demonstration of protective immunity against foetopathy in cattle with latent *Neospora caninum* infection. *Int J Parasitol*, 33, 1059-1065.
- WOUDA W, MOEN AR, VISSER IJ, VANKNAPEN F (1997) Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart, and liver. *J Vet Diagn Invest*, 9 (2), 180-185.
- WOUDA W (2000) Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. *Vet Q*, 22 (2), 71-74.
- YADAV GP, MANANDHAR S, KARNA AK, ACHARYA KP, MAHARJAN D, SINGH DK (2016) Seroprevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* in dairy cattle of western dairy pocket area in Chitwan district of Nepal. *Bangl J Vet Med* 14 (2), 215-220.
- YOUSSEFI MR, ARABKHAZAELI F, TABAR MOLLA HASSAN A (2009) Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in rural and industrial cattle in northern Iran. *Iranian J Parasitol*, 4 (1), 15-18.
- YILDIZ K, KUL O, BABUR C, KILIC S, GAZYAGCI AN, CELEBI B, GURCAN IS (2009) Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle ranches with high abortion rate: special emphasis to serologic coexistence with *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* and *Listeria monocytogenes*. *Vet Parasitol*, 164, 306-310.
- YILDIZ K, GÖKPINAR S (2017) Sığırlarda *Neospora caninum* doku kistlerinin araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 64, 45-49.
- ZHAI YQ, ZHAO XQ, LI L, WRANG CR (2007) Research advances in the diagnosis of cattle neosporosis. *J Anim Vet Adv*, 6 (12), 1377-1387.

ÖZGEÇMİŞ

I. Kişisel Bilgiler

Adı : Dilek
Soyadı : KULA
Doğum yeri ve Tarihi : Oğuzlar/ 01.06.1993
İletişim adresi : Erenler Köyü No:15 Oğuzlar/Çorum
Telefon : 05313157930
E-posta : kuladilek@hotmail.com

II. Eğitimi

Üniversite : Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Yabancı Dil : İngilizce

III. Yayınları

A- Ulusal Hakemli Dergilerdeki Yayınlar

1. Kula D, Gökpınar S (2018) Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) inhibitörleri. *Animal Health Prod and Hyg*, 7 (2): 596-601.