

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

EGE BÖLGESİ'NDEKİ ATIK SIĞIR FETÜSLERİNDE  
*NEOSPORA CANINUM*'UN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE  
TESPİTİ, MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE BÖLGE  
SEROPREVALANSININ BELİRLENMESİ

ÖMER FARUK GÖKCECİK  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Hasan EREN

Bu tez Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından 5606 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2023

## KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Anabilim Dalı (Veteriner) Doktora Programı çerçevesinde Ömer Faruk GÖKCECİK tarafından hazırlanan “Ege Bölgesi’ndeki Atık Sığır Fetüslerde *Neospora caninum*’un Moleküler Yöntemlerle Tespiti, Moleküler Karakterizasyonu ve Bölge Seroprevalansının Belirlenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: .../.../2022

Üye	: .....	(ünvan, adı soyadı)	...	(üniversite)	...
(T.D.)	.....	.....	.....	(imza)	...
Üye	: .....	(ünvan, adı soyadı)	.....	(üniversite)	...
	.....	.....	.....	(imza)	...
Üye	: .....	(ünvan, adı soyadı)	.....	(üniversite)	...
	.....	.....	.....	(imza)	...

ONAY:

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

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü V.

## TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen doktora eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübelerini aktaran, bilimsel ve akademik konularda çalışmalarımı titizlikle takip eden ve desteklerini esirgemeyen değerli danışmanım Prof. Dr. Hasan Eren'e çok teşekkür ederim. Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine de teşekkür ederim. Başta Dr. Abdurrahman Anıl Çağırğan ve Dr. İsmail Şahindokuyucu olmak üzere İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Parazitoloji, Viroloji, Bakteriyoloji ve Patoloji Laboratuvarlarında çalışan mesai arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmaya verdikleri her türlü katkı için İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü ile Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğüne tüm içtenliğimle teşekkür ederim. Ayrıca verdikleri bütçe olanaklarından dolayı tezi yapma fırsatı sunan Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM)'e teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışma süresince gösterdiği sabır, özveri ve desteklerle her daim yanımda olan kıymetli eşim Burcu ve ilham kaynağım kızım Zeynep Nil'e sonsuz teşekkür ederim. Tez döneminde ailemize katılan ve bana yeni bir ilham kaynağı olan küçük kızım Güneş aramıza hoş geldin, iyi ki geldin. Yine meslek hayatım boyunca bana hep inanan ve güvenen annem Şenay, babam Vahip, kardeşlerim Nisanur ve Durmuş Ali'ye de teşekkürü bir borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ .....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Neosporosis .....	3
2.2. Morfolojisi ve Sınıflandırılması .....	4
2.3. Yaşam Döngüsü ve Bulaşma.....	6
2.4. Konak-Parazit İlişkisi ve Patojenite .....	8
2.5. Klinik Belirtiler ve Abortus.....	9
2.6. Hastalığın Tanısı.....	10
2.7. Hastalığın Epidemiyolojisi, Dünya ve Türkiye'deki Yayılışı .....	11
2.8. Tedavi ve Korunma .....	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	15
3.1. Gereç.....	15
3.1.1. Çalışma Bölgesi ve Hayvan Materyali .....	15
3.1.2. Etik Beyan .....	16
3.2. Yöntem .....	16
3.2.1. <i>Neospora caninum</i> 'a Karşı Oluşan Antikorların Tespiti.....	16
3.2.1.1. Serumların Toplanması ve Çıkarılması .....	16
3.2.1.2. İndirekt ELISA Yöntemi .....	17
3.2.2. <i>Neospora caninum</i> 'un Moleküler Yöntemler Kullanılarak Tespiti.....	18
3.2.2.1. Doku Örneklerinin Homojenizasyonu ve DNA Ekstraksiyonu .....	19
3.2.2.2. Gerçek Zamanlı (Real-Time) PZR .....	20
3.2.2.3. Konvansiyonel PZR ve <i>Neospora caninum</i> Nc5 Bölgesinin Amplifikasyonu.....	21
3.2.3. Dizileme ve Filogenetik Analiz.....	23

3.2.4. İstatiksel Analiz .....	24
4. BULGULAR .....	25
4.1. Serolojik Analiz Bulguları.....	25
4.2. Moleküler Analiz Bulguları.....	29
4.2.1. Konvansiyonel PZR ve Agaroz Jel Elektroforez Bulguları.....	31
4.2.2. Dizileme ve Filogenetik Analiz Bulguları.....	32
5. TARTIŞMA .....	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	44
KAYNAKLAR .....	46
EKLER.....	61
Ek 1. Etik Kurul Raporu .....	61
BİLİMSEL ETİK BEYANI .....	62
ÖZ GEÇMİŞ .....	63

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>bp</b>	: Baz pair (Baz çifti)
<b>CFT</b>	: Complement Fixation Test
<b>Ct</b>	: Cycle Threshold
<b>dk</b>	: Dakika
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik Asit
<b>ELISA</b>	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>IFAT</b>	: İndirekt Floresan Antikor Testi
<b>IHA</b>	: İndirekt Hemaglutinasyon
<b>IHC</b>	: İmmünohistokimyasal
<b>LAT</b>	: Lateks Aglutinasyon Testi
<b>MAT</b>	: Modifiye Aglutinasyon Testi
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>MSS</b>	: Merkezi Sinir Sistemi
<b>NAT</b>	: Neospora Aglutinasyon Testi
<b>PCR</b>	: Polimerase Chain Reaction
<b>PZR</b>	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>rpm</b>	: Revolutions per Minute (Dakikadaki devir sayısı)
<b>SFDT</b>	: Sabin Feldman Dye Test
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>µg</b>	: Mikrogram

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Neospora caninum</i> 'un yaşam döngüsü .....	7
Şekil 2. <i>Neospora caninum</i> antikor ELISA testi sonuçlarının pozitif ve negatiflik yüzdelерinin illere göre dağılımı. ....	28
Şekil 3. <i>Neospora caninum</i> antikorlarının cinsiyete göre dağılımı .....	28
Şekil 4. <i>Neospora caninum</i> antikorlarının meşeyeye göre dağılımı .....	28
Şekil 5. <i>Neospora caninum</i> antikorlarının yaşa göre dağılımı .....	29
Şekil 6. <i>Neospora caninum</i> antikorlarının işletme tipine göre dağılımı.....	29
Şekil 7a. <i>Neospora caninum</i> Real-Time PZR amplifikasyon görüntüsü (1. test).....	30
Şekil 7b. <i>Neospora caninum</i> Real-Time PZR amplifikasyon görüntüsü (2. test).....	30
Şekil 8. <i>Neospora caninum</i> ' un Nc5 gen bölgesine göre filogenetik ağacı .....	35

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> <i>Neospora caninum</i> 'un yaşam formları. ....	4
<b>Resim 2.</b> Aborte fetüslere ait dokuların homojenizasyonu (Orijinal fotoğraf) .....	20
<b>Resim 3.</b> Spektrofotometrede okutulmak üzere hazırlanmış pleyt (Orijinal fotoğraf) .....	25
<b>Resim 4.</b> <i>Neospora caninum</i> pozitif beş aylık aborte fetüs (Orijinal fotoğraf).....	31
<b>Resim 5.</b> Agaroz jelde pozitif örneklerde oluşan 300 bp uzunluğundaki bantlar (Orijinal fotoğraf).....	32



## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> <i>Neospora caninum</i> 'un sistematik sınıflandırılması .....	5
<b>Tablo 2.</b> İşletme, kan serumu ve abort vaka sayılarının illere göre dağılımı.....	16
<b>Tablo 3.</b> Real Time-PZR reaksiyonu sıcaklık/süre koşulları ve döngü sayıları. ....	21
<b>Tablo 4.</b> Konvansiyonel PZR'da kullanılan primer dizilimleri .....	22
<b>Tablo 5.</b> PZR Master Mix (Reaksiyon Karışımı) hazırlanışı.....	22
<b>Tablo 6.</b> <i>Neospora caninum</i> 'un konvansiyonel PZR protokolü .....	22
<b>Tablo 7.</b> Serum toplanan illere göre ELISA sonuç ve oranları.....	26
<b>Tablo 8.</b> Serolojik çalışmada elde edilen <i>N. caninum</i> ELISA testi bulgularının değişkenlere göre pozitif ve negatiflik durumları ki kare değerleri ve önem dereceleri.....	27
<b>Tablo 9.</b> Sığır abort numunelerin illere göre dağılımı ve pozitiflik oranları .....	29
<b>Tablo 10.</b> Filogenetik çalışmada kullanılan pozitif örneklerden elde edilen izolatlar .....	33
<b>Tablo 11.</b> Örnekler ve kaynak izolat arasındaki benzerlik oranları .....	34

## ÖZET

### EGE BÖLGESİ'NDEKİ ATIK SIĞIR FETÜSLERİNDE *NEOSPORA CANINUM*'UN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TESPİTİ, MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE BÖLGE SEROPREVALANSININ BELİRLENMESİ

Gökcecik ÖF. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji (Veteriner) Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2023.

**Amaç:** Bu çalışma ile son yıllarda dünyada ve Türkiye'de sığır abortlarının önemli nedenlerinden biri olan ve ciddi ekonomik kayıplara yol açan neosporosisin, büyükbaş hayvancılığın yoğun olduğu Ege Bölgesi'ndeki durumunun araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Araştırmada İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü sorumluluk sahasına giren illerdeki sığır işletmelerinden örneklemeler yapılmıştır. Çalışmada Ege Bölgesi'nde bulunan işletmelerdeki abort vakalarına ait atık fetüslerin beyin ve iç organ dokularından DNA izolasyonu yapıldıktan sonra, bu örnekler Real-Time PZR test metodu ile analiz edilmiştir. Pozitif olarak tespit edilen örneklerden *Neospora caninum*'un moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Ayrıca serolojik olarak, basit rastgele örnekleme yöntemi ile %95 güven seviyesi, %10 beklenen prevalans (+/- 5) hata payı ile 973 sığırdan toplanan kan serumları ELISA yöntemi kullanılarak anti-*N. caninum* antikorları tespit edilmiştir.

**Bulgular:** Yapılan çalışmada RT-PZR yöntemiyle incelenen toplamda 88 sığır fetüsüne ait organ ve dokularının 8'inde (%9,09) *N. caninum* DNA'sı tespit edilmiş ve incelenen toplam 973 sığırın 122'si (%12,66) serolojik olarak pozitif bulunmuştur. RT-PZR ile pozitif bulunan örnekler sekans işlemlerine tabii tutularak filogenetik ağaçları oluşturulmuştur.

**Sonuç:** Ege Bölgesi'ndeki sığırlarda *N. caninum* yaygınlığı hem serolojik hem de moleküler çalışmalarla kapsamlı bir şekilde belirlenerek bölgedeki büyükbaş hayvancılık yetiştiriciliğinde *N. caninum* ile ilgili problem yaşayan işletmelerin güncel durumu ve *N. caninum* kaynaklı abort problemlerinin saha yansıması ortaya konmuştur. Elde edilen bulgulara göre hastalıkla ilgili mücadele stratejilerinin belirlenmesi ve son konakları da içeren daha kapsamlı çalışmalar yapılmasının önemli olacağı kanaatine varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Abort, Ege Bölgesi, ELISA, *Neospora caninum*, Real-Time PZR

## ABSTRACT

### MOLECULAR DETECTION OF *NEOSPORA CANINUM* IN ABORTED CATTLE FETUSES IN THE AEGEAN REGION, MOLECULAR CHARACTERIZATION AND DETERMINATION OF REGION SEROPREVALENCE

Gökcecik ÖF. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Parasitology (Veterinary) Program, Doctorate Thesis, Aydın, 2023.

**Objective:** In this study, it is aimed to investigate the situation of neosporosis, which is one of the important causes of cattle abortions in the World and in Türkiye in recent years, and the disease causes serious economic losses, in the Aegean Region of Türkiye, where cattle breeding is common.

**Material and Methods:** In this study, the sampling was done from cattle commercial herds in the provinces which are under the responsibility of İzmir / Bornova Veterinary Control Institute. In this study, brain and internal organ tissues of aborted fetuses belonging to abortion cases in commercial herds in the Aegean Region were collected and DNA isolated. Then the DNA samples were analyzed by RT-PCR method. Molecular characterization of *N. caninum* was performed in the positive samples. In addition, serologically, anti-*N. caninum* antibodies were detected using the ELISA test method in blood sera collected from 973 cattle, with a 95% confidence level and 10% expected prevalence (+/- 5) margin of error by simple random sampling method.

**Results:** In this study, *N. caninum* DNA was detected in 8 (9,09%) of the organs and tissues of 88 cattle fetuses examined by RT-PCR, and 122 (12,66%) of the 973 cattle examined and were found serologically positive. Phylogenetic trees were formed by sequencing the samples found positive by RT-PCR.

**Conclusion:** The presence of *N. caninum* in cattle in the Aegean Region has been comprehensively determined by both serological and molecular test methods, and the current situation of the commercial herds that have problems with *N. caninum* in cattle breeding in the region and the field reflection of *N. caninum*-induced abortion problems have been revealed. According to the findings, it was concluded that it would be important to determine

the control strategies for the disease and to carry out more comprehensive studies including the final hosts.

**Keywords:** Abortion, Aegean Region, ELISA, *Neospora caninum*, Real-Time PCR

# 1. GİRİŞ

Dünya genelinde nüfus artış oranının yüksek olması ve artan nüfus için hayvansal ürünler başta olmak üzere artan gıda talebinin karşılanması, hükümetlere ve çiftçilere zorluklar oluşturmaktadır. Hayvansal ürünlere yönelik artan talebi karşılamak ve çiftlik hayvanlarının verimliliğini artırmak için hayvan sağlığı ve sürü devamlılığı önem arz etmektedir (Tulu ve diğerleri, 2018). Sığırlarda abort hayvancılık endüstrisindeki ekonomik kayıpların en önemli nedenlerinden biridir (Barkallah ve diğerleri, 2014). Et ve süt üretiminde sürünün devamlılığını sağlayan damızlık buzağular işletmeler için birincil ekonomik değere sahipken süt hayvancılığında gelirlerin %60'ını süt üretimi, %40'ını ise yeni doğan yavrular oluşturur. Her yeni doğan buzağı satışından elde edilen gelir, işletmelerin süt verimindeki artış ve sürünün büyümesi gibi sebepler büyükbaş hayvancılık çiftlikleri için oldukça önemlidir (Demir ve diğerleri, 2019).

Abort, dış ortamda yaşama şansı bulunmayan fetüsün, sığırlarda gebeliğin 42-45. günleri ile 260. günleri arasında, çoğunlukla ölü bazen de canlı olarak uterusdan çıkması olarak tanımlanır (Şenünver ve Kılıçarslan, 2005; Tulu ve diğerleri, 2018). Sığırlarda 42. günden önce kaybedilen gebelikler genellikle erken embriyonik ölümler olarak adlandırılır (Hoving, 2009). Çoğu durumlarda embriyonik kayıplar bir fetüs gelişmeden oluşur. Embriyonik mortalite genellikle fark edilmez fakat bu durum boş hayvanlara veya buzağılama aralıklarında uzamaya neden olur. Bu erken kayıpların genellikle tanımlanmayan çok çeşitli fizyolojik, beslenme, çevresel ve enfekte olmayan nedenlerle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Abort, bir fetüsün tam gelişmeden ve uterus dışına canlılığını koruyamayacak durumdayken atılmış olması anlamına gelirken ölü ya da erken doğum dış ortamda canlılığını devam edebilecek bir fetüsün doğması anlamına gelir (Holler, 2012). İnfeksiyöz ajanlar (bakteriler, virüsler, protozoonlar ve mantarlar) başta olmak üzere toksik ajanlar, ısı stresi, genetik, idiyopatik, metabolik veya hormonal anormallikler, beslenme yetersizlikleri, travma gibi çok sayıda etken aborta sebep olabilir (Barkallah ve diğerleri, 2014; Dourdour ve diğerleri, 2017). Sürülerdeki abort oranları üreticiler, üretim sistemleri ve yönetim biçimlerine göre değişir fakat genelde %3 ile %5 arasındaki oran normal kabul edilirken %5'den daha yüksek oran genellikle kabul edilmez ve araştırılması gereken bir oran olarak değerlendirilir (Hoving, 2009; Holler, 2012). Bununla birlikte sığır eti için yüksek girdi fiyatları göz önüne

alındığında, tolere edilebilir abort oranının çok daha düşük olabileceği belirtilmiştir (Holler, 2012).

Dünya’da sığır abortlarının en önemli paraziter nedenleri arasında olan ve ciddi ekonomik kayıplara yol açan neosporosis ülkemizde de sıklıkla görüldüğü yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bugüne kadar Türkiye’de farklı bölgelerde yapılan serolojik çalışmalarda sığırlarda seropozitifliğin %2 ile %37,7 arasında değiştiği belirtilmiştir (Bıyıkoğlu ve diğerleri, 2001; Öncel ve Bıyıkoğlu 2003; Akça ve diğerleri, 2005; Aktaş ve diğerleri, 2005; Bıyıkoğlu ve diğerleri, 2005; Sevgili ve diğerleri, 2005; Vural ve diğerleri, 2006; İça ve diğerleri, 2006; Şimşek ve diğerleri, 2008; Pişkin ve Ütük, 2009; Yıldız ve diğerleri, 2009; Alan ve diğerleri, 2011; Kaya ve diğerleri, 2011; Kul, 2012; Balkaya ve diğerleri, 2012; Mor ve Akça, 2012; Aytekin ve diğerleri, 2013; Öcal ve diğerleri, 2014; Eşki ve diğerleri, 2016; Karatepe ve Karatepe, 2016; Eşki ve Ütük, 2018; Erol ve diğerleri, 2019; Demir ve diğerleri, 2020; Kasap ve diğerleri, 2020; Köse ve diğerleri, 2021; Kula ve Gökpinar, 2021). Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından her yıl yayımlanan ‘Hayvan Hastalıkları ile Mücadele ve Hayvan Hareketleri Kontrolü Genelgesi’ ne göre İzmir ve çevresindeki iller ülkemizde büyükbaş hayvancılığın yoğun olduğu bölgedir. Son yıllarda ülkemiz genelinde yapılan çalışmalarda neosporosis seroprevalansının yüksek olduğu bilinmesine rağmen büyükbaş hayvancılığın yoğun olduğu Ege Bölgesi’nde hastalıkla ilgili çalışmanın ise çok az sayıda olduğu dikkat çekmiştir (Yıldız ve diğerleri, 2009; Kul, 2012; Eşki ve Ütük, 2018; Erol ve diğerleri, 2019; Köse ve diğerleri, 2021; Limoncu, 2022). Ayrıca bu tez çalışmasına kadar Ege Bölgesi’nde sığır atık fetüslerinde *N. caninum* ile ilgili moleküler tabanlı hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır (Özkaraca ve diğerleri, 2017; Açıcı ve diğerleri, 2019; İrehan ve diğerleri, 2022; Şenel, 2022). Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmayla hastalığın bölgedeki sirkülasyonu ve epidemiyolojisi ortaya konulmuş olup hem serolojik hem de moleküler çalışmalar sonucunda elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilerek elde edilen çıktılarının hastalık ile mücadele stratejilerinin belirlenmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışma ile Ege Bölgesi illerinde *N. caninum* ile ilgili problem yaşayan sığırcılık işletmelerinin güncel durumu araştırılarak *N. caninum* kaynaklı abort problemlerinin saha yansıması kapsamlı bir şekilde ortaya konmuştur.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Neosporosis

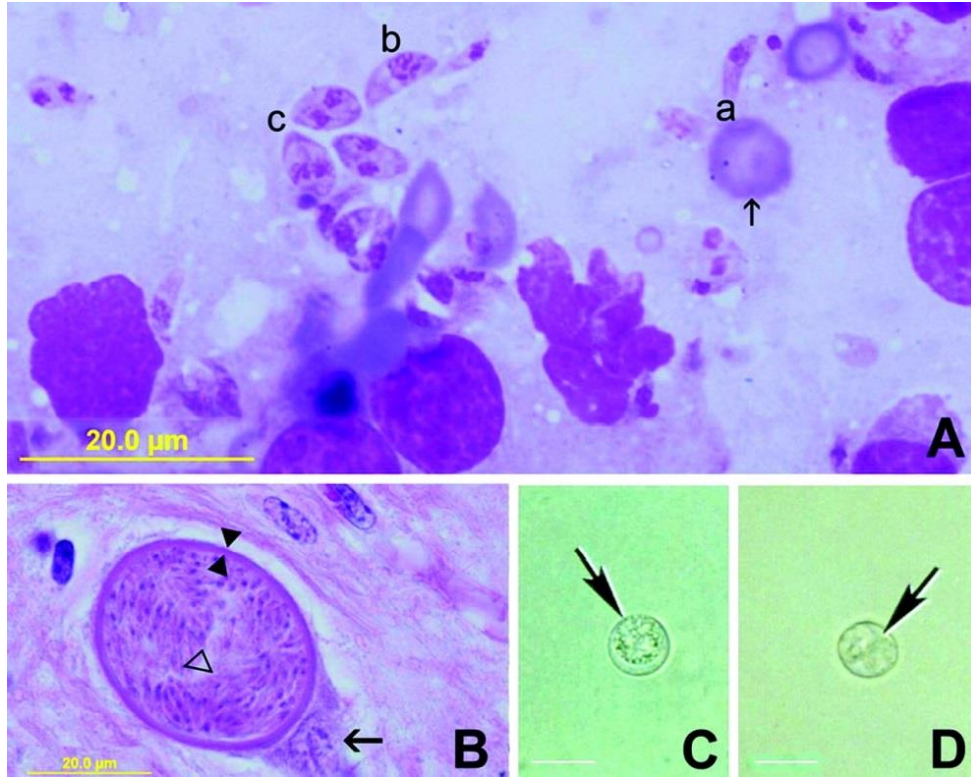
Sığırlar başta olmak üzere evcil ruminantlarda reproduktif hastalıklarının önemli bir sebebi olan ve yakın zamanda tanımlanan *N. caninum*, bir protozoon olup iki konakçılı yaşam döngüsüne sahiptir (Kaltungo ve Musa, 2013). Neosporosis hastalığı da *Toxoplasma gondii* benzeri, zorunlu hücre içi protozoon olan *N. caninum*'un neden olduğu bir hastalıktır. Dünyada geniş çapta bir yayılım gösteren ve büyükbaş hayvan sürülerinde reproduktif bozukluklara neden olan bu protozoon, üreticilerin en önemli ekonomik kayıplarındadır (Dubey ve diğerleri, 2017; Açıcı ve diğerleri, 2019). Neosporosis başta sığırlar olmak üzere tüm dünyadaki yabani ve evcil hayvan türlerinde oluşan abortların önemli bir nedeni olarak kabul edilmektedir. Hastalık süt ve et üretimindeki düşüş nedeniyle özellikle süt ve et sığırları arasında ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Neosporosis bir insan patojeni olarak tanınmamakla birlikte insanlarda serolojik olarak *N. caninum*'a karşı antikor varlığı bildirilmiştir (Lobato ve diğerleri, 2006; Shaapan, 2016).

*Neospora caninum* 1988 yılına kadar yapısal olarak benzerliği olan *T. gondii* ile karıştırıldı ve yanlış teşhis edildi. Hastalık ilk olarak 1984 yılında Norveç'te doğuştan enfekte köpeklerde bildirilse de 1988 yılında Labrador retriever ırkı köpek yavrularında izole edilmesiyle tanımlandı (Dubey ve diğerleri, 1988; Dubey ve diğerleri, 2017). Köpeklerin son konak olduğu ve ookist yaydığı 1988 yılında yapılan çalışmalarla bulundu (Dubey ve diğerleri, 1988; Lindsay ve Dubey, 2020). Neosporosis ile ilgili ülkemizde ilk çalışma 2001 yılında İç Anadolu Bölgesi illerinde serolojik bir çalışmayla başlamış, 2009 yılında etken ilk olarak klinik belirti gösteren bir sığırdaki immünohistokimyasal yöntemle tespit edilmiş ve 2014 yılında ilk moleküler tabanlı PZR çalışması yapılmıştır (Bıyıkoğlu ve diğerleri, 2001; Kul ve diğerleri, 2009; Öcal ve diğerleri, 2014). Ülkemizde yapılan çalışmalarda neosporosisin son yıllarda sığır abortlarının önde gelen nedenlerinden biri olduğu bildirilmiştir (Şentürk ve diğerleri, 2020). Türkiye'de neosporosis ile ilgili olarak özellikle süt sığırcılığı üzerine yapılan çalışmalarda süt üretimindeki düşüş, buzağılama aralığının uzaması, artan suni tohumlama sayısı, veteriner hizmetleri ve tanı masrafları gibi harcama kalemleri

dikkate alındığında Türkiye için yıllık maliyetin yaklaşık olarak 40.5 (24.6–60.3) milyon Amerikan Doları (USD) olduğu bildirilmiştir (Demir ve diğerleri, 2020).

## 2.2. Morfolojisi ve Sınıflandırılması

Sarcocystidae ailesi altında bulunan *N. caninum*, takizoit (trofozoit), bradizoit (doku kisti) ve ookist olmak üzere üç yaşam formuna sahiptir (Resim 1) (Aydın, 2016). Hücre içi gelişim gösteren takizoit ve bradizoitler ara konakçı dokularında hücre içinde bulunurlar (Dubey ve diğerleri, 2007). *Neospora caninum* ookistleri ise sporlanmamış haliyle son konaktan dış ortama (doğaya) atılır ve sporulasyonu son konağın dışında gerçekleşir. *Neospora caninum* ookistleri morfolojik olarak kedi dışkıdaki *T. gondii* ve *Hammondia hammondi* ookistleri ile köpek dışkıında bulunan *H. heydorni* ookistlerine benzemektedir (Dubey, 2003).



**Resim 1.** *Neospora caninum*'un yaşam formları.

(A) Fare karaciğerinde çok sayıda takizoit: (a) ince bir takizoit, (b) bölünme öncesi bir takizoit, (c) bölünme sonrası takizoitler. (B) Enfekte bir buzağının nöronunda doku kisti. (C) Köpek dışkıında sporlanmamış ookist. (D) İki sporokist içeren sporlanmış bir ookist (Dubey ve diğerleri, 2007).



Doku hasarına neden olan, ara konakta enfeksiyonu yayan ve transplasental yolla fetüse bulaşan takizoitler hızlı bir şekilde bölünerek çoğalan aşamadır (Lindsay ve Dubey, 2020). Konak hücresinde, vakuol içinde muz şekline sahip takizoitler 3-7 x 1-5 µm büyüklüğünde olup yapılarında hücre çeperi, mikronem, konoid, roptri, çekirdek, çekirdek zarı, endoplazmik retikulum, golgi aygıtı ve mitokondri içeren apikompleks bir yapıya sahiptir (Dubey, 2003; Aydın, 2016). Takizoit, konak hücre parçalanana kadar endodiyojeni adı verilen bir tür uzunlamasına ikili bölünmelerle aseksüel olarak hızlıca çoğalır. Bir süre sonra takizoitler bradizoitlere dönüşerek hareketsiz, kalın duvarlı doku kistleri oluşur. Merkezi sinir sisteminde görülen doku kistleri oval yuvarlak şekilli olup 107 µm büyüklüğe ulaşabilir. Doku kisti duvarı ise 4 µm kalınlığı ulaşabilir ve içlerinde 100'den fazla bradizoit olabilir. Bradizoitler 7-8 x 2 µm boyutlarında olup takizoitlerde görülen organellere sahiptir (Dubey, 1999; Lindsay ve Dubey, 2020).

Köpek dışkısı ile dış ortama atılan ookistler ilk atıldığında sporlanmamış (enfektif olmayan) halde ve 10 x 12 µm çapında küresel bir görünüme sahiptir. Konakçının dışında ookistler her biri dört sporozoit içeren iki sporokist olacak şekilde sporlanır. Kuraklık ve donmaya dirençli olan ookist duvarı sayesinde sporozoitler konakçı dışında uzun süre canlılığını korusa da *T. gondii* ookistlerini de etkileyen olumsuz çevre koşullarına dayanıksız olmaları kuvvetli olasılıktır (Dubey, 1999; Goodswen ve diğerleri, 2013; Lindsay ve Dubey, 2020).

Apicomplexa kök altı, Sarcocystidae ailesi, Toxoplasmatinae alt ailesi ve *Neospora* soyunda bulunan *N. caninum* protozoonunun sistematik sınıflandırmadaki yeri Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** *Neospora caninum*'un sistematik sınıflandırılması

<b>Şube</b>	Miozoa Cavalier-Smith, 1987
<b>Alt Şube</b>	Myzozoa Cavalier-Smith & Chao, 2004
<b>Infra Şube</b>	Infraphylum Apicomplexa Levine, 1970
<b>Üst Sınıf</b>	Sporozoa Leuckart, 1879
<b>Sınıf</b>	Coccidiomorpha Doflein, 1901
<b>Alt Sınıf</b>	Coccidia Leuckart, 1879
<b>Takım</b>	Eimeriida Léger, 1911
<b>Aile</b>	Sarcocystidae Poche, 1913
<b>Alt Aile</b>	Toxoplasmatinae Biocca, 1957
<b>Cins</b>	<i>Neospora</i> Dubey, Carpenter, Speer, Topper & Uggla, 1988
<b>Tür</b>	<i>Neospora caninum</i> Dubey, Carpenter, Speer, Topper & Uggla, 1988

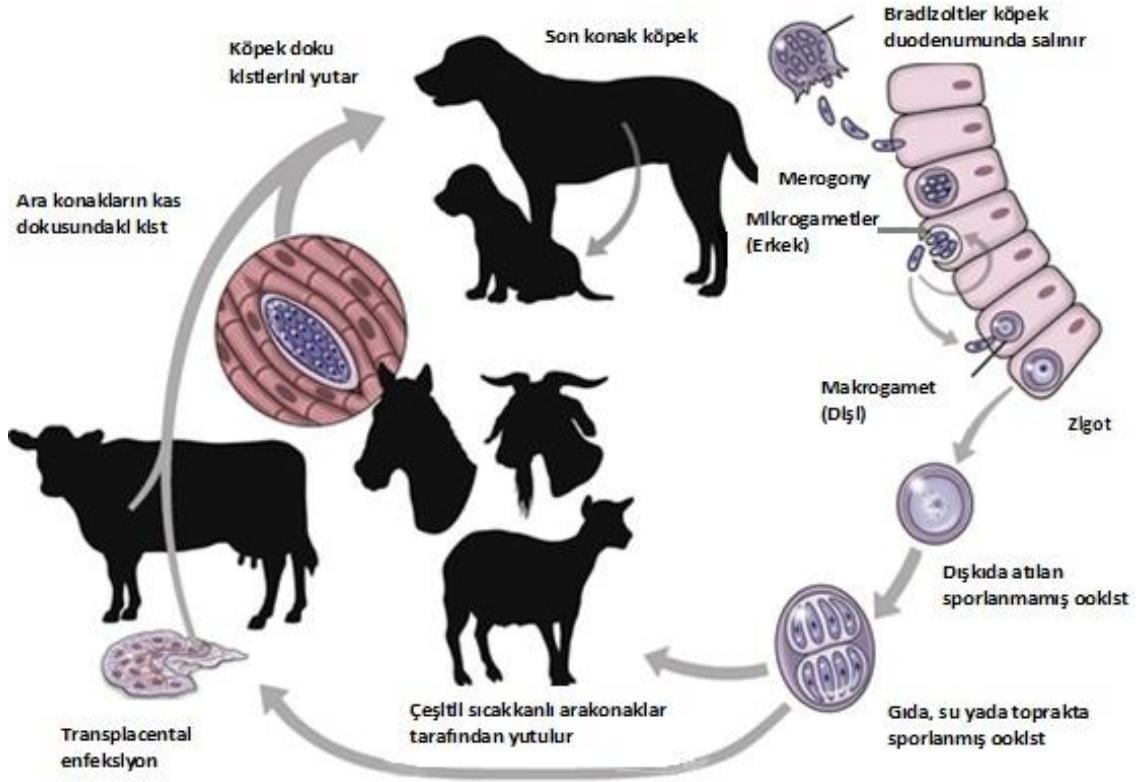
### 2.3. Yaşam Döngüsü ve Bulaşma

Genel olarak yaşam döngüsü ve yapısı açısından *T. gondii*'ye çok benzese de toksoplazmosis başlıca insan, koyun ve keçilerin bir hastalığıyken, neosporosis esas olarak sığır ve köpeklerin bir hastalığıdır. Koksidiyen bir parazit olan *N. caninum* geniş bir yaşam döngüsüne sahip olup, son konak köpek (*Canis familiaris*), çakal (*Canis latrans*), gri kurt (*Canis lupus*) ve dingo (*Canis lupus dingo*) gibi köpekgillerde seksüel üreme döngüsüne sahiptir. Sığır başta olmak üzere koyun, keçi, manda, deve, geyik ve at gibi ara konaklarda ise aseksüel yaşam döngüsü görülür (Dubey, 2003; Dubey ve diğerleri, 2007; Goodswen ve diğerleri, 2013).

*Neospora caninum*'un yaşam döngüsündeki üç enfeksiyöz form olan takizoit, bradizoit ve ookist formu etkenin taşınmasında temel rol oynamaktadır (Dubey, 2003). Köpeklerin doku kistlerini almasıyla *T. gondii*'ye benzer seksüel ve aseksüel bir döngüyle ookist ürettiğine inanılmaktadır. Köpek dışkıyla ile dış ortama bırakılan sporlanmamış ookistler dış ortamda sporlanarak ara konak sığır, koyun, keçi, at veya köpek tarafından bulaşık yem ve sularla alınırlar. Bağırsakta serbest kalan sporozoitler bağırsak epitel hücrelerine girerek ara konakçıda takizoitlere dönüşürler. Takizoitler konakçı hücreler arasında hareket ederek veya kan yolu ile hücre dışı olarak yayılmaya devam ederler. Doku hasarına neden olan, enfeksiyonu ara konakta yayan ve transplasental yolla fetüse bulaştıran aşama olan takizoit aşaması hızla bölünen aşamadır. Ara konakçıda hücre içinde bulunan takizoitler, latent aşama olan bradizoitlere dönüşerek özellikle merkezi sinir siteminde doku kistleri oluşturur. Enfekte konağa ait plasenta, abort olmuş fetüs veya uterus atıkları ile diğer iç organlarında bulunan doku kistlerinin köpekler tarafından alınmasıyla biyolojik döngü devam eder (Şekil 1) (Dubey, 2003; Aydın, 2016; Lindsay ve Dubey, 2020; Salehi ve diğerleri, 2021).

*Neospora caninum*'un bulaşması horizontal ve vertikal bulaşma olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Horizontal bulaşmada (post-natal aktarım) etkene ait takizoitler ya da bradizoitleri içeren enfekte dokuların son konak tarafından yenilmesi ya da yine yeme ve içme yoluyla sporlanmış ookistlerin ara konak tarafından oral yolla alınması sonucu gerçekleşmektedir. Vertikal yolla bulaşmada ise *N. caninum* etkeni gebelik döneminde enfekte anneden transplasental yolla fetüse taşınmaktadır (Dubey ve diğerleri, 1992; Dijkstra ve diğerleri, 2001; Dubey, 2003; Dubey ve diğerleri, 2007). Sığırlardaki bilinen bütün parazitler arasında *N. caninum* transplasental yolla bulaştığı iyi bilinen etkenlerden en

önemlidir. Bunun en önemli kanıtı inekler ve onların yavrularının *N. caninum* yönünden seroprevalansının karşılaştırılması ile ortaya konmuştur. Plasenta enfeksiyonuna maruz kalan hayvanlarda anneden fetüse herhangi bir antikor transferi olmadığı bildirilmiştir. Bu nedenle fetal yada prekolozal serumda spesifik antikorun bulunması uterusu fetüs tarafından antikor sentezinin olduğunu ifade etmektedir (Dubey ve diğerleri, 1987).



Şekil 1. *Neospora caninum*'un yaşam döngüsü (Jane E. Sykes, 2016'dan modifiye edilmiştir.)

<https://veteriankey.com/neosporosis/>, 01.10.2022

Doğada köpekler hastalık etkenini enfekte doku atıklarını yemek suretiyle alır. Sığırlarda ise gebelik sırasında fetüse parazit göçüyle gerçekleşen vertikal bulaşma kanıtlanmış temel bulaşma yoludur (Dubey ve diğerleri, 1992; Dijkstra ve diğerleri, 2001; Hernandez ve diğerleri, 2002; Gharekhani ve Yakhchali, 2020). Transplacental bulaşma şekli olan vertikal bulaşma esas bulaşma yolu olsa da veneral veya embriyo transferi yoluyla da bulaşma olduğu belirtilmiştir (Aydın, 2016). Öte yandan 2022 yılına kadar yapılan çalışmalarda sığırdan sığıra bulaşmanın olmadığı belirtilmiştir (Limoncu, 2022).

## 2.4. Konak-Parazit İlişkisi ve Patojenite

Heteroksen bir gelişme gösteren *N. caninum*'un ara konakları sığır, koyun, keçi, at ve geyik olup köpek, çakal, gri kurt ve dingolar etken için hem ara hem de son konakçısıdır. Köpekler enfeksiyondan sonra değişen süreler boyunca ookist çıkarabilir ve çevre şartlarına dayanıklı ookistlerin uzun süre enfektif oldukları belirtilmektedir (Kaltungo ve Musa, 2013; Aydın, 2016 Lindsay ve Dubey, 2020). İnsanlarda *anti-N. caninum* antikorları tespit edilmiş olsa da zoonoz olarak kabul edilmemektedir (Lobato ve diğerleri, 2006; Duarte ve diğerleri, 2020).

Enfeksiyonun takizoit formu ruminantlarda kana, ekstravasküler dokulara, nöral hücrelere (MSS), beyin, kalp, karaciğere ve eğer ara konakçı gebe ise plasentaya geçebilir. Plasenta yoluyla fetüse de geçen etken patolojik olarak en fazla hasarı burada oluşturur. Fetüste takizoitler hızla çoğalarak bulunduğu hücreyi patlatarak tahrip etmekte ve bu dönemde çok sayıda hücre yıkıma uğramaktadır. Bu hücre tahribatına bağlı olarak ağır enfeksiyonlarda abort şekillenmektedir (Kaltungo ve Musa, 2013; Aydın, 2016). *Neospora caninum* kaynaklı vakaların %85'inden fazlasında etken MSS'de lokalize olmakla birlikte kalp, iskelet kası, karaciğer ve böbrekler gibi diğer bazı organlarda daha az oranlarda etkilenmektedir. Aborte fetüslere ait doku ve organlardaki lezyonlar ise sadece histolojik muayenede görülebilir (Reichel, 2000; Toolan, 2003). Genellikle aborte fetüslerin başta beyin spinalleri olmak üzere kalpte, bazen karaciğer, akciğer ve böbreklerinde etken tahribatına bağlı oluşan lezyonlara rastlanabilmektedir. Aborte fetüse ait plasenta kotiledonlarında da nekrozlar görülebilir. Fetüste kalp ve karkas ödemli olup ilerlemiş olgularda multifokal nekrotik nonprulent ensefalitis ve miyokarditis görülmektedir. Beyin damarlarında hücre infiltrasyonu ve nekroz bulunmaktadır. Nekropsi bulgularında sırt omurlarında yumuşama, deviyasyon ve daralma görülebilir (Kaltungo ve Musa, 2013; Aydın, 2016).

Sığırlarda *N. caninum* enfeksiyonunun patogenizinde kilit olay persiste bir enfeksiyonun gebelik sırasında nüksederek paraziteminin zamanlaması ve şiddetini tetiklemesine bağlıdır. Gamma-interferon aktif olarak çoğalan takizoitlere karşı koruyucu bağışıklık oluşmasını sağlayan önemli bir sitokindir. *Neospora caninum* enfeksiyonları gamma-interferon üretimi sonucunda oluşan yardımcı T-hücre yanıtı ile kontrol altında tutulabilir. Fakat gebelik esnasında oluşan hormonal değişiklikler ile bu yanıtta da değişiklikler

olabileceği ve abortun bu immun tepkilerden kaynaklanıyor olabileceği belirtilmektedir (Innes ve diğerleri, 2001; Quinn ve diğerleri, 2002).

## 2.5. Klinik Belirtiler ve Abortus

Her yaştaki gebe ruminantların abort olaylarında akla neosporosis gelir. Özellikle sığırlarda gebeliğin ortasında (5-6. ay) oluşan abortlar genellikle enfeksiyonun tek belirtisi olsa da gebeliğin üçüncü ayından gebeliğin sonuna kadar *N. caninum*'a bağlı abort vakaları oluşabilir. Enfekte fetüsler canlılığını kaybederek uterusu rezorbe olabilir, mumifiye olabilir, otolize olabilir, ölü doğabilir, klinik belirtilerle ya da klinik belirti göstermeden enfekte bir şekilde canlı doğabilir (Shaapan, 2016; Lindsay ve Dubey, 2020).

*Neospora caninum*'un hem süt ineklerinde hem de etçi sığırlarda meydana getirdiği tek klinik belirtinin abort olduğu belirtilmiştir (Dubey, 1999a; Reichel, 2000). Buna ek olarak enfekte sürülerde ilk gebeliklerdeki abort riskinin sonraki gebeliklerden daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Dubey ve diğerleri, 2007). Süt sığırcılığı işletmelerinde meydana gelen abortların üçte biri gebeliğin ilk birkaç ayında gerçekleşir. Seropozitif hayvanlarda gebeliğin ortalarında antikor titrelerinde artışın olması latent enfeksiyonun yeniden aktive olduğunun kuvvetli göstergesidir (Lindsay ve Dubey, 2020). Seropozitif hayvanlarda neosporosis kaynaklı abort vakaları yıl boyunca gerçekleşir. Seropozitif sığırların atık yapma olasılığı seronegatif sığırlara göre daha yüksektir (Anderson ve diğerleri, 2000; Dubey, 2003; Açııcı ve diğerleri, 2019). Ancak seropozitif sığırlardan doğan buzağılar konjenital olarak enfekte olsa da klinik olarak bu buzağuların yaklaşık %95'inin normal olduğu görülmüştür (Dubey, 1999a; Dubey, 2003; Quintanilla ve diğerleri, 2000).

*Neospora caninum* ile ilişkili konjenital enfeksiyonlarda abort, ölü doğum, klinik veya subklinik enfekte buzağı doğumları gebeliğin farklı dönemlerinde görülmektedir (Innes ve diğerleri, 2007). Sığırlarda neosporosis kaynaklı erken intrauterin fetüs ölümleri ve ikinci trimesterin (3 aylık dönem) ortalarına kadar devam eden abortun sebebinin fötüsün bağışıklık sisteminin tam olarak gelişmemesi olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. (Barr ve diğerleri, 1994; Williams ve diğerleri, 2000; Macaldowie ve diğerleri, 2004). Sığırların gebelik süresince 150. güne kadar fetüsün bağışıklık sistemleri tam olarak gelişmediği için *N. caninum* enfeksiyonlarına karşı savunmasız olduğu; gebeliğin ortalarında *N. caninum* enfeksiyonuna karşı bağışıklık oluşmaya başladığı bildirilmiştir. Gebeliğin ilk trimester ve

ikinci trimester dönemlerinde fötüsün bağışıklık sisteminin gelişmemiş ya da yetersiz olmasına bağlı olarak; erken embriyonik ölümlerin gebeliğin ilk trimesterinde meydana geldiği, abort ya da ölü doğumların ise sıklıkla ikinci trimesterde gözlendiği belirtilmiştir (Dubey ve Schares, 2006). Üçüncü trimesterde fetüsün etkene karşı bağışıklık sisteminin daha da güçlü olduğu belirtilse de; bağışıklık sisteminin gelişmediği erken intrauterin fetüs ölümleri ve abort, neosporosisin en önemli semptomlarıdır (Anderson ve diğerleri, 2000; Almeria ve diğerleri, 2003; Innes ve diğerleri, 2005; Bartley ve diğerleri, 2019). Üçüncü trimester dönemi olan gebeliğin son döneminde ise fetüsün bağışıklığı yeterli olduğundan, buzağılar konjenital olarak enfekte olsalar bile ineklerin genellikle normal doğum yaptığı ifade edilmiştir (Quintanilla-Gozalo ve diğerleri, 2000; Innes ve diğerleri, 2001; Maley ve diğerleri, 2003; Dubey ve Schares, 2006; Dubey ve diğerleri, 2007; Innes ve diğerleri, 2007; Kul, 2012).

Klinik belirtiler yalnızca iki aylıktan küçük buzağılarda bildirilmiş olup, konjenital enfeksiyonlarda buzağılar zayıf ya da prematüre doğabilir. Nadiren görülen klinik belirtiler hafif ataksiden tetraplejiye kadar değişen, hidrosefali, ekzoftalmi ve büyüme güçlükleriyle seyreden sinirsel semptomlardır. Nörolojik muayenede gözlerde asimetri, ataksi, azalmış patellar refleks ve bilinçli propriyosepsiyon kaybı göze çarpar (Anderson ve diğerleri, 1991; Shaapan, 2016; Lindsay ve Dubey, 2020).

## 2.6. Hastalığın Tanısı

Hayvancılık işletmelerinde *N. caninum* etkeninin prevalansının belirlenmesi çeşitli kontrol programının uygulanmasına ve dolayısıyla ekonomik kayıpların azaltılmasına yardımcı olur. Ayrıca neosporosis hastalığının latent seyri ve klinik olarak semptom göstermemesi hastalığın teşhisine yönelik çeşitli laboratuvar tanı yöntemlerinin geliştirilmesini sağlamıştır. *Neospora caninum* enfeksiyonunun tanısında ışık ve elektron mikroskobu ile histopatolojik ve immunopatolojik incelemenin yanı sıra çeşitli serolojik ve moleküler testler kullanılabilir (Barber ve diğerleri, 1995; Lally ve diğerleri, 1996; Ortega-Mora ve diğerleri, 2006; Lindsay ve Dubey, 2020).

Gebe sığırlardaki abort olayları neosporosisi akla getirirse de abort yapmış bir ineğin kan serumunun serolojik yöntemlerle incelenmesi ve bununla birlikte fetüsün histolojik muayenesi kesin tanı için gereklidir (Gharekhani ve Yakhchali, 2020; Lindsay ve Dubey,

2020). Etkeni taşıyan gebe sığırlarda gebelik sırasında tipik olarak antikor kinetiği değişmektedir. Değişen bu antikor tepkilerinin belirli aralıklarda değerlendirilmesi olası abortları önlemede bir araç olarak önerilmiştir (Quintanilla-Gozalo ve diğerleri, 2000). Beyin, kalp, karaciğer, plasenta, vücut sıvıları ve kan serumu teşhiste sıklıkla kullanılsa da, en çok etkilenen organ olan beyin dokusundan hazırlanan preparatlar kesin ve kolay tanı için önemlidir (Lindsay ve Dubey, 2020).

İmmunohistokimyasal ve çeşitli boyama yöntemleriyle etkenin ışık mikroskobu ile teşhisinin yanında, serolojik olarak *N. caninum* spesifik IgG ve IgM antikorları ELISA, IFAT ve NAT testleri ile belirlenebilir. Serolojik testler içerisinde en duyarlı test metodunun ELISA olduğu bildirilmiştir. Hastalığın teşhisinde atık fetüslerin beyin dokularından elde edilen parazit DNA'sının saptanması amacıyla moleküler tanı yöntemi olan PZR testi de 1996 yılından beri sıklıkla kullanılmaktadır. PZR ile teşhisin etkinliğinin laboratuvar koşullarına, fetüsün otoliz aşamasına ve örnekleme prosedürlerine bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir (Aydın, 2016; Lindsay ve Dubey, 2020; Salehi ve diğerleri, 2021). Dokularda *N. caninum* etkeni çok az sayıda bulunsa bile; parazit DNA'larına ait hedef genlerin (18S rDNA, 28S rDNA, ITS1 ve Nc5) PZR yönteminde kolayca tespit edildiği belirtilmiştir (Ortega-Mora ve diğerleri, 2006; Salehi ve diğerleri, 2021).

## 2.7. Hastalığın Epidemiyolojisi, Dünya ve Türkiye'deki Yayılışı

Neosporosis'de son konak karnivorlarda bulaşma enfekte konağa ait plasenta, aborte fetüs veya uterus atıkları ile diğer iç organlarında bulunan doku kistlerinin (brodizoitler) alımıyla ve parazitin ookist formlarının kontamine gıda ve sularla oral yolla alınmasıyla oluşur. Ara konaklarda ise bulaşma sadece parazitin ookist formları ile kontamine gıda ve suların oral yolla alınmasıyla oluşmaktadır (Almeria ve Lopez-Gatius, 2013; Aydın, 2016; Lindsay ve Dubey, 2020; Salehi ve diğerleri, 2021). *Neospora caninum*'un hem ara ve son konak çeşitliliğinin fazla olması hem de ookist formunun çevre şartlarına dirençli olması dünyanın her yerinde geniş bir yayılım göstermesini sağlamıştır. Serolojik araştırmalar birçok hayvan türünün *N. caninum*'a maruz kaldığını göstermiştir (Almeria ve Lopez-Gatius, 2013; Aydın, 2016). Dünya genelinde yapılan çalışmalarda özellikle sığır abortlarının önemli etkenleri arasında olması, son yıllarda üzerine fazla araştırma yapılan hastalıklardan biri olmasını sağlamıştır (Aydın, 2016).

Kesin konak köpeklerde dünya genelinde yapılan çalışmalarda farklı serolojik yöntemler ve farklı cut-off değerleri kullanılması nedeniyle hastalığın seroprevalansı çalışmalar arasında büyük farklılık görülmektedir (Dubey ve diğerleri, 2007). *Neospora caninum* dünyada ruminantlarda da oldukça yaygın olup yapılan çalışmalarda seroprevalans oranları son konak köpeklerde olduğu gibi serolojik teste ve cut-off değerine aynı zamanda hayvanların yaşına, cinsine, cinsiyetine ve sürü yönetimine bağlı olarak değiştiği görülmüştür. Dünya genelinde çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda koyunlarda seroprevalans değerleri %0 ile %72 arasında değişirken keçilerde %0 ile %26,6 arasında değiştiği ve sığırlar üzerinde yapılan çalışmalarda %0 ile %97,2 arasında değiştiği bildirilmiştir (Dubey ve diğerleri, 2017; Filho ve diğerleri, 2017).

Türkiye’de koyunlarda *N. caninum* seroprevalansı konusunda ilk çalışma 2015 yılında Kars yöresinde yapılmış ve seropozitiflik oranı %2,1 bulunmuştur. Öte yandan ülkemizde koyun neosporosisi üzerine yapılan çalışma sayısı oldukça sınırlı olup seroprevalansın %0 ile %12,4 arasında olduğu bildirilmiştir (Gökçe ve diğerleri, 2015; Özkaraca ve diğerleri, 2016; Eşki ve diğerleri, 2018). Türkiye’de keçilerde ilk çalışma 2003 yılında Şanlıurfa yöresinde yapılmış olup seroprevalans değeri %5 bulunmuştur (Sevgili ve diğerleri, 2003). Ülkemizde keçiler üzerinde yapılan araştırmaların da oldukça az olduğu ve bu çalışmalar arasında en yüksek seropozitiflik oranın Niğde yöresinde yapılan çalışmada %25,9 olduğu bildirilmiştir (Cayvaz ve Karatepe, 2011).

*Neospora caninum*’un yaygınlığının araştırılması amacıyla birçok serolojik test kullanılmış olsa da sığırlar üzerinde yapılan serolojik çalışmaların birçoğunda ELISA ve IFA testlerinin kullanıldığı görülmüştür. Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde büyükbaş hayvanlarda *N. caninum* prevalansını belirlemek amacıyla çeşitli yöntemlerle (c-ELISA, i-ELISA, IFAT) çok sayıda serolojik test yapılmıştır (Kul, 2012; Eşki ve Ütük, 2018; Erol ve diğerleri, 2019; Demir ve diğerleri, 2020; Köse ve diğerleri, 2021; Limoncu, 2022). Türkiye’de sığırlarda ilk çalışma 2001 yılında İç Anadolu Bölgesi’nde retrospektif olarak yapılmış ve %5,10 ile %32,72 arasında değişen oranlarda seropozitiflik tespit edilmiştir (Bıyıkoğlu ve diğerleri, 2001). Bugüne kadar ülkemizin farklı bölgelerindeki diğer çalışmalarda ise sığırlarda seropozitiflik %2 ile %37,7 arasında değişmiştir (Akça ve diğerleri, 2005; Kul, 2012; Öcal ve diğerleri, 2014; Eşki ve Ütük, 2018; Erol ve diğerleri, 2019; Demir ve diğerleri, 2020; Köse ve diğerleri, 2021; Kula ve Gökpinar, 2021). İzmir iline farklı ülkelerden ithal edilerek getirilen 613 sığırdan SRS2 indirekt ELISA yöntemi ile 52 pozitiflik (%8,5) bulunurken, ticari ELISA yöntemi ile 25 örnekte (%4,1) pozitiflik tespit edilmiştir (Limoncu, 2022). Ülkemizde



2020 yılına kadar sığırlar üzerinde yapılan tüm serolojik çalışmalarda *N. caninum* protozoonunun ortalama seroprevalansının %14,7 (1672/11.373) olduğu bildirilmiştir (Demir ve diğerleri, 2020).

Türkiye’de sığırlar üzerinde PZR yöntemi ile az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan ilki 2014 yılında yıl boyunca Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsüne gönderilen 102 sığıra ait aborte fetüslere ait dokuların incelenmesinde 26 (%25,49) fetüste pozitiflik bulunmuştur (Özkaraca ve diğerleri, 2017). Bir diğer çalışmada Orta Karadeniz Bölgesi’nde 89 sığıra ait abort fetüslerin 44’ünde (%49,4) *N. caninum* DNA’sı tespit edilmiştir (Açııcı ve diğerleri, 2019). Yine Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü’ne Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerindeki 13 farklı ilden gönderilen 30 sığır aborte fetüsüne ait organların PZR yöntemiyle incelenmesinde 2 (%6,66) fetüste pozitiflik bulunmuştur (İrehan ve diğerleri, 2022). Son olarak Marmara Bölgesi’ndeki illeri kapsayan bir doktora çalışmasında PZR yöntemiyle toplam 84 sığıra ait atık fetüsün 22’sinde (%26,19) *N. caninum* DNA’sı tespit edilmiştir (Şenel, 2022).

## 2.8. Tedavi ve Korunma

Günümüzde neosporosisin tedavisinde kullanılan etkin bir ilaç olmamakla birlikte sulfonamides, pyrimethamine, sulfadiazine, sulfamethazine, sulfamerazine, trimethoprim/sulfamethoxazole kombinasyonu ile bazı diğer anticoccidial ilaçların (toltrazuril, ponazuril) in vitro ve bazı in vivo çalışmalarında neosporosis sağaltımında etkili olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca sığırlarda koruma amaçlı moneksinin kullanılabilmesi önerilmektedir (VanLeeuwena ve diğerleri, 2010; Qian ve diğerleri, 2015; Dubey ve diğerleri, 2017). Bununla birlikte sığırlarda *N. caninum* ile ilişkili abortları önlemek amacıyla kullanılan ve ölü takizoit antijenleriyle geliştirilmiş tek ticari aşı olan Bovilis Neoguard™® yeterli koruyuculuk sağlayamadığı düşüncesiyle piyasadan kaldırılmıştır (Monney ve Hemphill, 2014). Fakat bu aşının vertikal bulaşmaya karşı koruma sağlamasa da abort sorunu yaşayan sürülerde abort oluşumunu önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Monney ve diğerleri, 2011; Weston ve diğerleri, 2012).

Neosporosis’in etkin bir tedavisi olmadığı için koruma ve kontrol yöntemlerinin hastalığın önlenmesinde daha etkili olduğu bildirilmiştir (Silva ve Machado 2016; Lindsay ve Dubey, 2020). Dünya genelinde birçok çalışma yüksek oranlardaki ookist kontaminasyonu

olan ortak kullanılan su kaynakları, otlatma sistemleri, sürü büyüklüğü, hayvan besleme alışkanlıkları ve işletmelerde son konak varlığının ruminantlarda *N. caninum* enfeksiyonu ile bağlantılı potansiyel risk faktörleri olduğunu belirtmiştir (Villagra-Blanco ve diğerleri, 2019; Abdeltif ve diğerleri, 2022). Hem ara hem de son konak olan köpeklerin atık fetüs kalıntılarını yemelerinin engellenmesi ve sığır yem depo alanları ile otlama alanlarına erişimlerinin engellenmesi sayesinde biyolojik döngünün kırılması sağlanır. Biyolojik döngünün kırılması ise korunmada oldukça önemlidir. Bununla birlikte özellikle hayvancılık işletmelerinde bulunan köpeklerde düzenli aralıklarla paraziter mücadelenin yapılması önemlidir (Silva ve Machado 2016; Aydın, 2016). Ayrıca etkenin vertikal yolla anneden yavruya geçebileceği göz önünde tutularak, bir sürüdeki tüm hayvanların düzenli aralıklarla, tercihen doğum sezonunu sonrasında anti-*N. caninum* antikoru yönünden taranması ve seropozitif ineklerin damızlıktan çıkarılmasının, korunmada en geçerli yöntemlerden biri olduğu belirtilmiştir. Bu yolla seronegatif annelerden doğan seronegatif buzağılar seçilerek işletmelerin devamlılığı *N. caninum* etkeni taşımayan düvelerle sağlanmalıdır (Dubey ve diğerleri, 2007; Gharekhani ve Yakhchali, 2020).

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Gereç

#### 3.1.1. Çalışma Bölgesi ve Hayvan Materyali

Ege Bölgesi coğrafi konum olarak Kuzey Yarım Kürede 38° 57' 58" kuzey ile 28° 43' 14" doğu koordinatlarında, Türkiye'nin batısında yer alan ve denize kıyısı olan bir bölgedir. Yıllık ortalama 584.4 milimetre (mm) yağış alan ve yıllık ortalama sıcaklığın 17-18 °C arasında değiştiği; kıyılarda subtropik iç bölgelerde karasal iklim özelliği gösteren bir bölgedir. Ege Bölgesi'nin ortalama yüksekliği 600 ile 800 metre (m) arasında değişmektedir.

Bu tez çalışmasında, İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü sorumluluk alanında bulunan Aydın, Denizli, İzmir, Kütahya, Manisa, Muğla ve Uşak illerindeki büyükbaş hayvancılık işletmelerinde oluşan aborte fetüsler ve kan serumları örneklemede kullanılmıştır. Serolojik çalışmada, Ege Bölgesi'nde halk elinde bulunan sığırlardan her ilden basit rastgele örnekleme yöntemi ile %95 güven seviyesi, %10 beklenen prevalans (+/- 5) hata payı baz alınarak 139 adet, toplamda 973 adet büyükbaş hayvana ait kanlar işletmeler ziyaret edilerek toplanmıştır. Moleküler çalışmada ise Mayıs 2021 ve Mayıs 2022 tarihleri arasında İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü'ne gelen abort vakalarından 88 adet atık fetüse ait beyin, kalp, karaciğer ve böbrek doku örnekleri kullanılmıştır (Tablo 2).

**Tablo 2.** İşletme, kan serumu ve abort vaka sayılarının illere göre dağılımı.

Şehirler	Serolojik Çalışma İçin Örneklemeye Yapılan İşletme Sayısı (n)	Serolojik Çalışma İçin Örneklemeye Yapılan Hayvan Sayısı (n)	Abort Vaka Sayılarının Dağılımı (n)
İzmir	6	139	6
Manisa	11	139	13
Aydın	6	139	14
Muğla	10	139	9
Denizli	11	139	22
Uşak	8	139	18
Kütahya	6	139	6
<b>TOPLAM</b>	<b>58</b>	<b>973</b>	<b>88</b>

### 3.1.2. Etik Beyan

Bu tez çalışması İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 16.04.2021 tarih ve E-71705440-770-1262115 sayılı onayı ile gerçekleştirilmiştir (EK 1).

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. *Neospora caninum*'a Karşı Oluşan Antikorların Tespiti

#### 3.2.1.1. Serumların Toplanması ve Çıkarılması

Rastgele örnekleme yöntemi ile her sığırdan tekniğine uygun şekilde vena jugularis'ten veya kuyruk altı veninden yaklaşık 5 ml kan, antikoagulanlı kan tüplerine (VACUSERA CAT Serum GEL & Clot Activator, Turkey, Ref: 236308) alınarak soğuk zincirde laboratuvara getirilmiştir. Alınan kan örneklerinin il, ilçe, örnek sayısı, işletme tipi, hayvanların menşei, cinsiyeti ve yaşına ait bilgiler kontrol edilerek kaydedilmiştir. Kayıt işlemlerinden sonra tüpler 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj (Thermo Fisher Scientific, Germany) edilerek

serumlar çıkarılmış ve ayrılan serumlar 1,5 ml'lik eppendorf tüplere (ISOLAB centrifuge tubes, Germany, Ref: S.078.03.002.500) alınmıştır. Yapılacak olan serolojik çalışmalara kadar bu serumlar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.1.2. İndirekt ELISA Yöntemi

*Neospora caninum* ile enfekte hayvanlarda bağışıklık yanıtı sonucu oluşan özgün anti-*N. caninum* antikorlarının tespiti amacıyla çok sayıda ticari kit geliştirilmiştir (Kılıç, 1991; Silva ve diğerleri, 2007; Campero ve diğerleri, 2015; Sinnott ve diğerleri, 2017; Lindsay ve Dubey, 2020; Limoncu, 2022). Geliştirilen bu kitlerden hem kolay uygulanması hem de birçok örneğin aynı analizde değerlendirilmesine olanak sağlayan indirekt ELISA testi en sık kullanılan serolojik test yöntemlerinden birisidir (Sinnott ve diğerleri, 2017). Bu tez çalışmasında da serolojik test yöntemi olarak indirekt ELISA yöntemi kullanılmıştır.

Serolojik çalışma için toplanan serumlar -20 °C'de muhafaza edildikleri derin dondurucudan ve ELISA testinde kullanılacak ticari kit (ID Screen® *Neospora caninum* Indirect, Product No. NCS, Lot: I04) +4 °C de muhafaza edildikleri buzdolabından çalışma öncesi çıkarılarak sıcaklıkları oda ısısına (21 °C ± 5) getirilmiştir. Çalışma ELISA pleytlerinin 1. ve 2. kuyucuklarına pozitif kontrol, 3. ve 4. kuyucuklarına negatif kontrol ve kalan kuyucuklara ise toplanılan örnek serumları eklenecek şekilde planlanmıştır. Kit içeriğinde bulunan dilution buffer 2 solüsyonu her kuyucuğa 90 µl konularak üzerine 10'ar µl pozitif ve negatif kontrol solüsyonları ile örnek serumları ilave edilmiştir. Böylelikle kontrol solüsyonları ve örnekler dilution buffer 2 solüsyonu ile 1:10 oranında dilüe edilmiştir. Daha sonra pleytlerin ağzı kapatılarak soğutmalı inkübatörde (Memmert ICP 55, Germany), 21 °C de 45 ± 4 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında her kuyucuk yaklaşık 300 µl yıkama solüsyonu ile kitte belirtilen yıkama protokolüne uygun olarak 3'er kez yıkanmıştır. Sonraki aşamada her kuyucuğa 100 µl konjugat solüsyonu eklenmiş ve ikinci inkübasyon için pleytlerin ağzı kapatılarak inkübatörde 21 °C de 30 ± 3 dakika inkübe edilmiştir. İlk inkübasyon sonrasında yapılan yıkama işlemi bu aşamada da tekrarlanarak yıkama sonrası her kuyucuğa 100 µl substrate solüsyonu eklenmiştir. Hazırlanan pleyt 21 °C de karanlık ortamda 15 ± 2 dakika daha inkübe edilmiştir. Son inkübasyon periyodunun ardından yıkama işlemi yapılmadan her kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu ilave edilerek pleytler spektrofotometrede değerlendirmek üzere hazır hale getirilmiştir. Bu aşamaların ardından her bir kuyucukta

bulunan numuneler spektrofotometre (BioTek ELX800 Universal Microplate Reader, USA) kullanılarak 450 nm’de optik dansiteleri (O.D.) okutularak sonuçlar kaydedilmiştir.

Testin validasyonu üretici firmanın protokolünde belirtilen şekilde yapılmıştır. Pozitif kontrollerin ortalama optik dansite değerleri bulunarak bu değerlerin 0.350 den küçük olduğu ve yine pozitif kontrollerin ortalama optik dansite değerleri, negatif kontrollerin ortalama optik dansite değerlerine bölüldüğünde bu değerinde 3 den büyük olduğu tespit edilmiştir.

Her bir numuneden elde edilen optik dansite değerleri aşağıda gösterilen üretici firmanın protokolünde belirtilen şekilde formülize edilerek serum örneklerinin % S/P değerleri saptanmıştır.

$$\text{S/P \%} = \frac{\text{OD}_{\text{sample}} - \text{OD}_{\text{NC}}}{\text{OD}_{\text{PC}} - \text{OD}_{\text{NC}}}$$

### 3.2.2. *Neospora caninum*’un Moleküler Yöntemler Kullanılarak Tespiti

Sığır aborte fetüslerinde *N. caninum* etkeninin varlığını belirlemek amacıyla moleküler tanı yöntemleri hem dünyada hem de ülkemizde sıklıkla kullanılmaktadır (Ortega-Mora ve diğerleri, 2006; Özkaraca ve diğerleri, 2017; Açıcı ve diğerleri, 2019; Salehi ve diğerleri, 2021). Serolojik çalışmalar abort yaygınlığının araştırılması ve olası *N. caninum* etkeni hakkında doğru ve güvenilir sonuçlar verse de etkenin latent seyri ve persiste doğan buzağılardan dolayı abort nedenini kesin olarak ifade etmemektedir. *Neospora caninum* antikoları taşıyan her hayvanın atık yapmadığı ya da aksine her atığın *N. caninum* kaynaklı bir abort olmadığı yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Demeli 2017; Cerqueira-Cézar ve diğerleri, 2017; Tulu ve diğerleri, 2018). Bu tez çalışmasında da Ege Bölgesi’nde *N. caninum* etkenine yönelik kapsamlı bir çalışma yapılması hedeflenmiş ve bu doğrultuda serolojik yöntemlerle sürülerdeki pozitifliğin tespiti yanında aborte fütüslerde *N. caninum* etkeninin DNA’sını moleküler yöntemlerle araştırılarak etkenin filogenetik çalışmalarının yapılması hedeflenmiştir. Bu amaçla moleküler çalışmanın ilk aşamasında RT-PZR kiti (ID Gene™ *Neospora caninum* Duplex, Product No. IDNEO-100) kullanılarak pozitiflikler tespit edilmiş

ve sonraki aşamada konvansiyonel PZR analizi ile pozitif örnekler doğrulanarak filogenetik çalışmalar yapılmıştır.

### 3.2.2.1. Doku Örneklerinin Homojenizasyonu ve DNA Ekstraksiyonu

Ülkemizde ve dünyada moleküler tekniklerle yapılan birçok çalışmada aborte fetüslere ait beyin, miyokard, karaciğer, akciğer, dalak, böbrek, timus, amniyotik sıvılar ve fetal membranlar gibi birçok doku ve organ homojenizasyonda kullanılmıştır (Baszler ve diğerleri, 1999; Özkaraca ve diğerleri, 2017; Açıcı ve diğerleri, 2019). Bu tez çalışmasında DNA ekstrasyonu ve PZR yöntemi ile *N. caninum* DNA'sını tespit etmek amacıyla her aborte fetüsten nekropsi sırasında beyin, kalp, karaciğer ve böbrek doku örnekleri 50 ml'lik sızdırmaz kapaklı steril flakonlara (ISOLAB centrifuge tubes, Germany, Ref: CTPPD2002) alınmıştır. Daha sonra laboratuvar ortamında biyogüvenlik kabininde (Faster BH-EN 2004 Class II, Italy) steril havanda pens ve makas yardımıyla parçalara ayrılan herbir dokudan yaklaşık 1'er gramlık örnekler karıştırılarak steril kum (Sea sand, Merck, Germany, CAS-No: 14808-60-7) ile ezilmiştir. Tüm doku örneklerinin harmanlanmasıyla oluşan doku karışımı vasat (Cegrogen biotech Leibovitz's L-15 Medium, w/o L-Glutamine) ile 1/10 oranında homojenize edilmiştir. Homojenizatlar 15 ml hacimdeki steril santrifüj tüplerine (Sarstedt, Germany, Ref: 62.554.502) aktarıldıktan sonra soğutmalı santrifüjde (ThermoFisher SL 16R, Germany) +4 °C ve 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek homojenizatlar hazırlanmıştır. Homojenizatlara ilgili kod numaraları yazılarak 1,5 ml'lik eppendorflara (ISOLAB centrifuge tubes, Germany, Ref: S.078.03.002.500) bölünmüş ve kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Resim 2).



**Resim 2.** Aborte fetüslere ait dokuların homojenizasyonu (Orijinal fotoğraf)

DNA ekstraksiyonu için hazırlanmış homojenizatlar ekstraksiyon işlemi için muhafaza edildikleri dolaplardan çıkartılarak oda ısısında çözümleri sağlanmıştır. Çözünen her homojenizattan 0,2 ml alınarak otomatik ekstraksiyon cihazında (Roche MagNA Pure LC System) kullanılan 32 kuyucuklu plaklara porsiyonlamaları yapılmış ve plak cihazın ilgili bölümüne yerleştirilmiştir. Ticari ekstraksiyon kitinin (MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit, Roche, Germany, Product No. 03038505001) içeriğinde bulunan tüm kimyasallar tek seferde otomatik ekstraksiyon cihazının ilgili bölümlerine eklenerek ekstraksiyon işlemleri yapılmıştır.

### **3.2.2.2. Gerçek Zamanlı (Real-Time) PZR**

Gerçek zamanlı (Real-Time) PZR testi, ticari PZR kitinin (ID Gene™ *Neospora caninum* Duplex, Product No. IDNEO 100) prosedürüne göre yapılmıştır. Prosedüre göre kit içeriğinde bulunan reaksiyon karışımının (Amplification Reaction Mix - ARM-NEO) vorteks (Labnet, USA) ile homejenizasyonu sağladıktan sonra 96 gözlü RT-PZR plaklarına (Roche LightCycler® 480 Multiwell Plate 96, White, Germany, Ref: 04 729 692 001) 8'er µl olacak şekilde konulmuştur. Daha sonra üzerlerine ekstraksiyon işlemleri yapılmış 5'er µl örnek, pozitif kontrol ve negatif kontrol eklenerek 13 µl'lik toplam hacim elde edilmiştir. RT-PZR



testinde pozitif (+) kontrol olarak ticari firmadan temin edilen plazmid *N. caninum* DNA'ları kullanılmıştır. Plakların üzeri şeffaf bant ile kapatıldıktan sonra soğutmalı santrifüjde (Thermo Fisher Scientific, Germany) 1500g'de +4 °C'de 2 dk. santrifüj edilerek sonrasında plak PZR cihazının (Roche LyghtCycler ® 480 Multiwell Plate 96 System) karoseline yerleştirilmiştir. Tablo 3'de belirtilen reaksiyon koşulları uygulanarak RT-PZR testi yapılmış ve sonuçlar cihaza bağlı bilgisayar ekranında değerlendirilmiştir.

**Tablo 3.** Real Time-PZR reaksiyonu sıcaklık/süre koşulları ve döngü sayıları.

Aşamalar	Standart Program	Döngü sayısı
Polimeraz aktivasyonu	95°C 10 dakika	1
DNA denatürasyonu ve uzama	95°C 15 saniye	40
	60°C 60 saniye	

Pozitif örneklerdeki floresan ışımaya ve buna bağlı logaritmik artış bilgisayar ekranında görüntülenmiştir (Şelil 7a, Şekil 7b). Bilgisayar programının hesaplamasıyla pozitif örneklerin Cycle threshold (Ct) değerleri okunarak ve değerlendirilmiştir.

### 3.2.2.3. Konvansiyonel PZR ve *Neospora caninum* Nc5 Bölgesinin Amplifikasyonu

Bu tez çalışmasında RT-PZR testi ile pozitif bulunan 8 adet *N. caninum* örneğinin dizi analizlerinin yapılabilmesi için konvansiyonel PZR testleri yapılmıştır. *Neospora caninum*'un moleküler teşhis ve karakterizasyonunda 18S rDNA, 28S rDNA, ITS1 ve Nc5 dahil olmak üzere birçok hedef gen kullanılmaktadır. Fakat bu genler arasında *T. gondii*, *Sarcocystis cruzi* ve *Hammondia hammondi* gibi protozoonların genomunda bulunmayan Nc5 gen bölgesinin son yıllarda tercih edilen ve yaygın olarak kullanılan gen bölgesi olduğu bildirilmiştir (Salehi ve diğerleri, 2021). Bu çalışmada da PZR testinde Müller ve diğerlerinin (1996) protokolüne göre *N. caninum* Nc5 bölgesinde 330 bp fragman uzunluğundaki bölgeyi amplifiye eden primer çifti kullanılmıştır (Tablo 4).

**Tablo 4.** Konvansiyonel PZR’da kullanılan primer dizilimleri

Gen Bölgesi	Primer Dizisi		Referans
<i>Neospora caninum</i> Nc5	<b>F (3'-5')</b>	CCCAGTGCCTCCAATCCTGTAAC	Müller ve diğerleri, 1996
	<b>R (5'-3')</b>	CTCGCCAGTCAACCTACGTCTTCT	

Çalışmada *N. caninum* primerleri kullanılarak Hotstart PZR kitiyle (Xpert Fast Hotstart Mastermix 2X, Lot: 7E50316A) reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Kit içeriğindeki tarife göre toplam hacim 25 µl olacak şekilde bileşenler modifiye edilmiş ve uygun optimizasyon sağlanarak PZR reaksiyon bileşimi Tablo 5’de belirtilen şekilde hazırlanmıştır.

**Tablo 5.** PZR Master Mix (Reaksiyon Karışımı) hazırlanışı

Bileşenler	Hacim	Son Konstrasyon
Xpert Fast Hotstart Mastermix 2X	12,5 µl	1X
Primer F	2 µl	0,4 µM
Primer R	2 µl	0,4 µM
DNA örnek	5 µl	1-250 ng
H <sub>2</sub> O (DNA free)	3,5 µl	
<b>Toplam</b>	<b>25 µl</b>	

PZR reaksiyonu için sığır aborte fetüse ait dokularda *N. caninum*’un Nc5 gen bölgesine kit içeriğindeki protokol ile primerlerin bağlanma sıcaklıkları optimize edilmiş ve Tablo 6’daki konvansiyonel PZR protokolü uygulanmıştır.

**Tablo 6.** *Neospora caninum*’un konvansiyonel PZR protokolü (Müller ve diğerleri, 1996)

Aşamalar	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Döngü sayısı
İlk Denatürasyon	95°C	10 dakika	1
<b>PZR Amplifikasyonu</b>			
Denatürasyon	95°C	1 dk.	35
Annealing	58°C	1 dk.	
Uzama	72°C	2 dk.	
Son Uzama	72°C	10 dk.	1

PZR testi sonunda elde edilen ampikonların değerlendirilmesi amacıyla agaroz jel elektroforezi yapılmıştır. PZR ürünleri DNA yükleme boyası (6x Loading Dye, Thermo Scientific, USA, R0611) ile muamele edilerek 0,5 µg/ml ethidium bromide (Nalgene Fisher Scientific, BP-1302-10, USA) içeren %1,5'lük agaroz (Sigma, USA) jele aktarılmıştır. Ürün büyüklüğünün tespit edilebilmesi amacıyla marker olarak 100 bp'lik DNA ladder (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, Thermo Fisher Scientific, Litvanya, SM0241COMPONENTA) elektroforez cihazında (Thermo Electron Corporation EC-330 Midicell Primo, USA) ilk tarak gözüne konularak elektroforez işlemi 85 voltta 90 dakika sürdürülmüştür. Daha sonra agaroz jel görüntüleme cihazında (Vilber Lourmat, EEC, France) incelenmiştir. Işımanın olduğu bantlar pozitif olarak kabul edilmiştir. Kontrolleri yapılan DNA örnekleri sulandırılarak daha sonra PZR'da kullanılmak üzere - 20 °C'de saklanmıştır.

### 3.2.3. Dizileme ve Filogenetik Analiz

*Neospora caninum* pozitif örneklerin PZR'larından elde edilen ürünlerden üç tanesinin 330 bp nükleotid dizilerinin filogenetik analizleri ticari bir firmaya (Microsynt, Balgach, Switzerland) hizmet alımı yöntemiyle yaptırılmıştır. Gelen sonuçların düzeltme ve eşleştirme işlemleri DNADynamo programı ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen konsensüs nükleotid dizileri National Central for Biotechnology Information (NCBI) (Altschul ve diğerleri, 1990)'de Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) sisteminde karşılaştırılarak doğrulanmıştır. Tez çalışmasında elde edilen pozitif örneklerin filogenetik analizleri için izolatların *N. caninum* için elde edilen 330 bp'lik nükleotid dizileri ve genbanktan alınan referans dizilerinin çoklu dizi hizalamaları MEGA X programı kullanılarak ClustalW metodu ile gerçekleştirilmiştir. Her iki segment için en iyi Protein/DNA modeli belirlenerek diziler arası nükleotid benzerlik oranları belirlenmiştir. Maximum likelihood yöntemi ile 1000 tekrarlı önyükleme sekmesi (Bootstrap: 1000) seçilmiş ve filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Filogenetik analizin sonuçlarını yorumlamak için Sequence Demarcation Tool Version 1.2 (SDTv1.2) programı kullanılmıştır. Program bir grafik bağlantı noktası ile renk kodlu ikili kimlik matrisi kullanarak veri kümesindeki diziler arasındaki yakınlığın görselleştirilmesi sağlanmıştır (Muhire ve diğerleri, 2014).

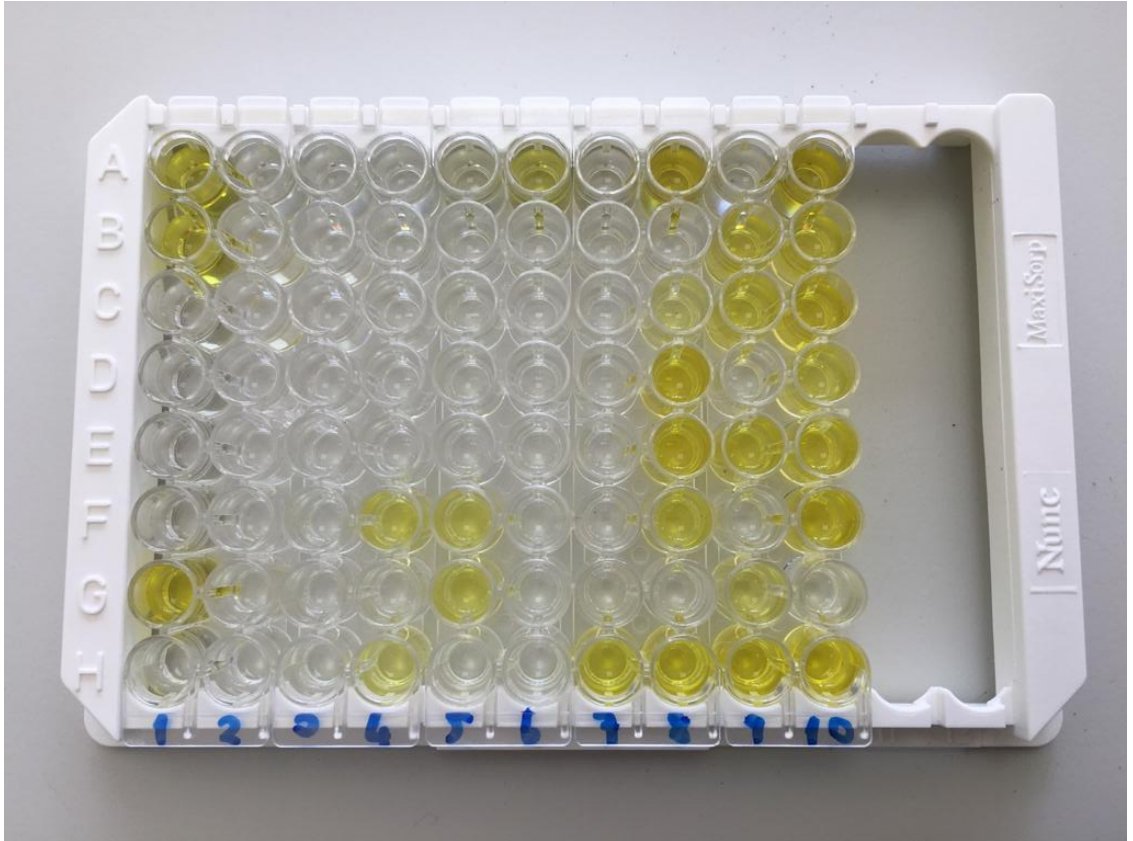
### 3.2.4. İstatiksel Analiz

Pozitif ve negatif sonuçların iller, cinsiyet, yaş grupları, menşei ve işletme tipi değişkenleri arasındaki ilişki çapraz tablolar ile incelenmiştir. Gruplar arasında bu değişkenlerin sıklıkları arasında fark bulunup bulunmadığı Ki-kare ve/veya Fisher'ın kesin testi ile değerlendirilmiştir. Ki kare testi sırasında cinsiyet değişkeninde gözlerin %25'inde beklenen değer 5'ten küçük olduğu durumlarda Fisher'ın kesin testi kullanılmıştır. Sonuçların istatistik analizleri için önem sınırı  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir. Elde edilen veriler Excel® (Microsoft®, V.2016, Washington, ABD) programıyla kayıt altına alındı ve sonuçlar SPSS® (IBM®, V. 21, Armonk, NY, ABD) programıyla istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Serolojik Analiz Bulguları

Rastgele örnekleme yöntemi ile Ege Bölgesi'nde her ilden eşit sayıda (n=139) toplanan sığır serum örneklerinden ELISA yöntemiyle çalışmalar yapılmıştır (Resim 3). Yapılan analiz sonuçlarında İzmir'de 26 (%18,70), Manisa'da 18 (%12,94), Aydın'da 32 (%23,02), Muğla'da 7 (%5,03), Denizli'de 6 (%4,31), Uşak'ta 21 (%15,10) ve Kütahya'da 12 (%8,63) olmak üzere değerlendirilen 973 sığırdan 122'sinde (%12,66) anti-*N. caninum* antikoru tespit edilmiştir. Örnekleme yapılan 58 işletmenin 32'sinde (%55,17) seropozitif sığırlara rastlanmıştır (Tablo 7).



Resim 3. Spektrofotometrede okutulmak üzere hazırlanmış pleyt (Orjinal fotoğraf)

**Tablo 7.** Serum toplanan illere göre ELISA sonuç ve oranları

<b>İller</b>	<b>Toplanan Örnek Sayısı</b>	<b>Pozitif Örnek Sayısı (%)</b>	<b>Örnekleme Yapılan İşletme Sayısı</b>	<b>Pozitif İşletme Sayısı (%)</b>
İzmir	139	26 (18,70)	6	5 (83,33)
Manisa	139	18 (12,94)	11	7 (63,63)
Aydın	139	32 (23,02)	6	3 (50)
Muğla	139	7 (5,03)	10	3 (30)
Denizli	139	6 (4,31)	11	5 (45,45)
Uşak	139	21 (15,10)	8	5 (62,5)
Kütahya	139	12 (8,63)	6	4 (66,66)
<b>Toplam</b>	<b>973</b>	<b>122 (12,66)</b>	<b>58</b>	<b>32 (55,17)</b>

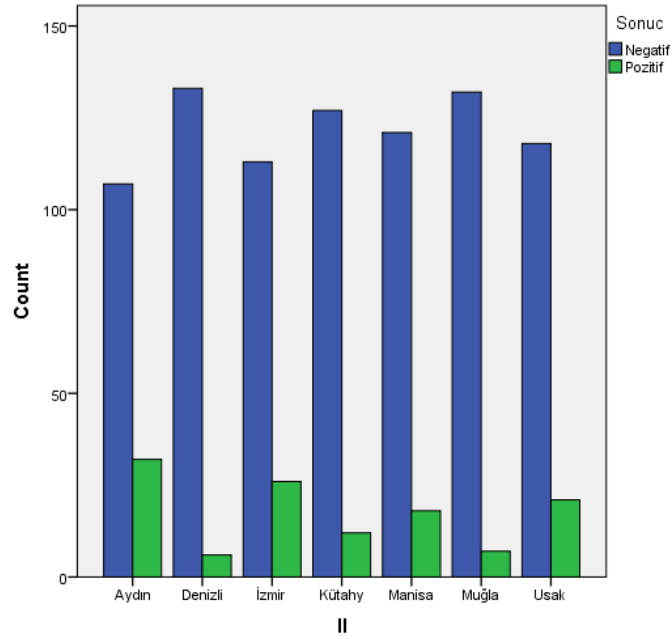
Türkiye’de yapılan diğer serolojik çalışmalar ile yaptığımız serolojik çalışma istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında örneklem büyüklükleri ( $p=0,50$ ) ve bulduğumuz pozitiflik sayıları ( $p=0,80$ ) önceki çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Bulduğumuz sonuçların iller, cinsiyet, yaş grupları, menşei ve işletme tipine göre dağılımı ile yüzde pozitiflik değerleri Tablo 8’de gösterilmiştir. Ayrıca elde edilen bulgular görsel olarak değerlendirilebilmesi için iller, cinsiyet, yaş grupları, menşei ve işletme tipine göre dağılımları sütun grafiklerinde gösterilmiştir (Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5, Şekil 6).

**Tablo 8.** Serolojik çalışmada elde edilen *N. caninum* ELISA testi bulgularının değişkenlere göre pozitif ve negatiflik durumları ki kare değerleri ve önem dereceleri.

Parametre	Negatif	%	Pozitif	%	Ki-kare	P değeri
<b>İl</b>						
Aydın	107	77,0%	32	23,0%	37,24	0,001
Denizli	133	95,7%	6	4,3%		
İzmir	113	81,3%	26	18,7%		
Kütahya	127	91,4%	12	8,6%		
Manisa	121	87,1%	18	12,9%		
Muğla	132	95,0%	7	5,0%		
Uşak	118	84,9%	21	15,1%		
<b>İşletme Tipi</b>						
Aile	507	82,4%	108	17,6%	38,4	0,001*
Entegre	344	96,1%	14	3,9%		
<b>Menşei</b>						
İthal	45	90,0%	5	10,0%	0,63	0,43
Yerli	645	86,0%	105	14,0%		
<b>Yaş (Ay)</b>						
0-6	27	87,1%	4	12,9%	0,90	0,64
7-24	123	84,2%	23	15,8%		
>24	585	87,2%	86	12,8%		
<b>Cinsiyet</b>						
Dişi	752	87,1%	111	12,9%	0,21	0,45 <sup>†</sup>
Erkek	27	90,0%	3	10,0%		

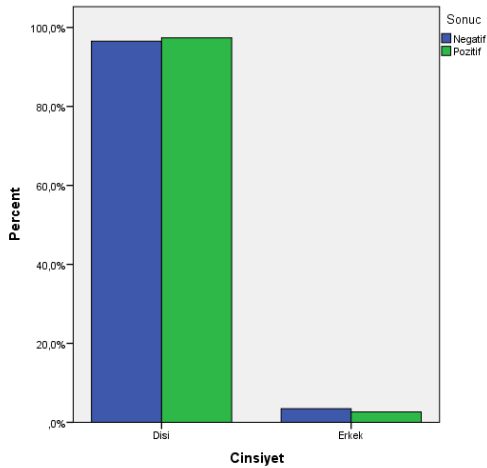
\* p<0,05

<sup>†</sup> Fisher'in exact testi kullanılmıştır.

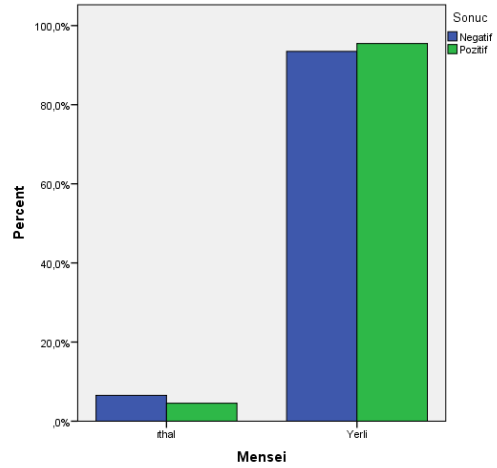


Şekil 2. *Neospora caninum* antikor ELISA testi sonuçlarının pozitif ve negatiflik yüzdelerinin illere göre dağılımı.

İstatiksel analizlere göre illerden toplanılan sığır serumlarında *N. caninum* etkeninin antikor varlığı yönünden cinsiyet, yaş aralığı ve hayvanların ithal ya da yerli olmasını içeren risk faktörlerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ( $P>0.05$ ) (Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5). Öte yandan örnekleme yapılan aile tipi işletmelerdeki 615 hayvana ait kan serumunun 108'i (%17,6) pozitifken entegre işletmelerdeki 358 hayvana ait kan serumlarının 14'ü (%3,9) pozitif bulunmuştur. İşletme tipine göre yapılan istatistiksel çalışmalarda işletme tiplerinin anti-*N. caninum* antikorlarının varlığı yönünden istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ) (Şekil 6).

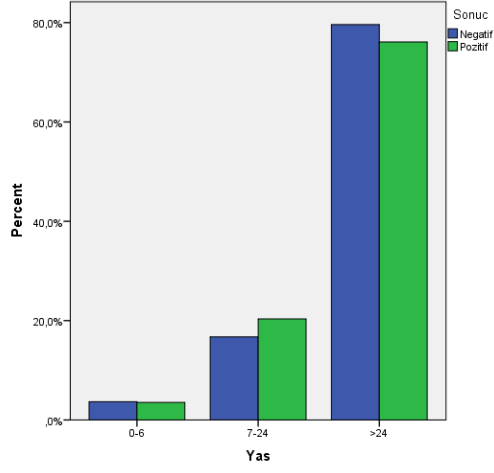


Şekil 3. *Neospora caninum* antikorlarının cinsiyete göre dağılımı

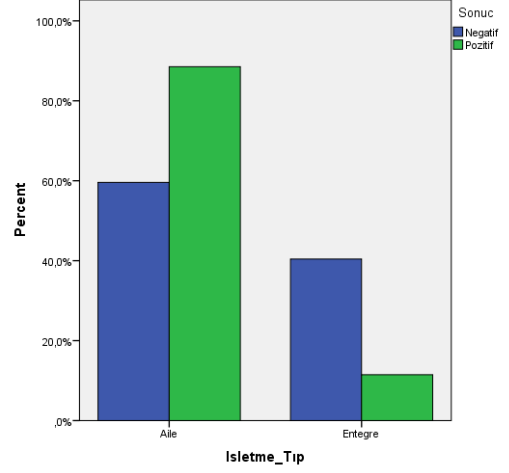


Şekil 4. *Neospora caninum* antikorlarının meşeye göre dağılımı





Şekil 5. *Neospora caninum* antikorlarının yaşa göre dağılımı



Şekil 6. *Neospora caninum* antikorlarının işletme tipine göre dağılımı

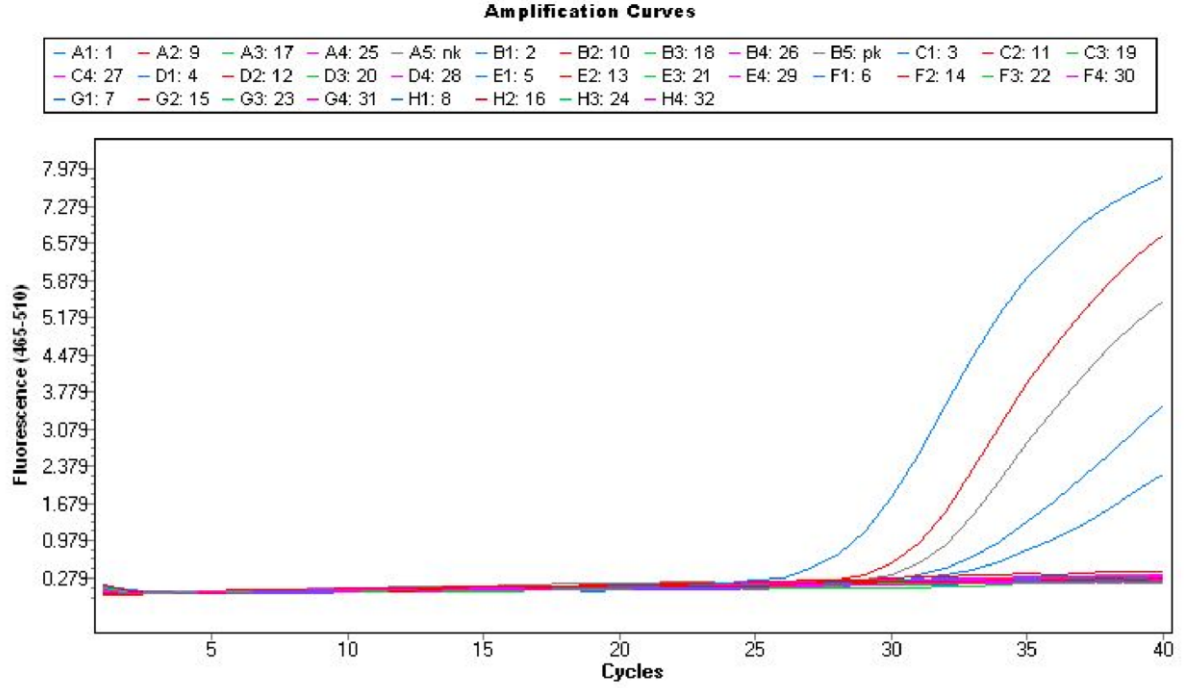
## 4.2. Moleküler Analiz Bulguları

Ege Bölgesi illerinden gelen ve RT-PZR yöntemiyle incelenen toplamda 88 adet sığır fetüsüne ait organ ve doku karışımlarının 8'inde (%9,09) *N. caninum* DNA'sı tespit edilmiştir (Tablo 8). Sığır aborte fetüs numune sayısı en düşük il İzmir (n=6) ve Kütahya (n=6) olurken en yüksek il Denizli (n=22) olmuştur. Sığır aborte fetüse ait doku karışımlarında RT-PZR yöntemi ile *N. caninum* DNA'sı İzmir'de %16,66 (1/6), Manisa'da %15,38 (2/13), Aydın'da %7,14 (1/14), Denizli'de %9,09 (2/22) ve Uşak'ta %11,11 (2/18) oranlarında bulunmuştur. Muğla ilinden gelen 9 aborte fütüse ait doku karışımları ile Kütahya ilinden gelen 6 aborte fütüse ait doku karışımlarında ise pozitiflik tespit edilmemiştir (Tablo 9).

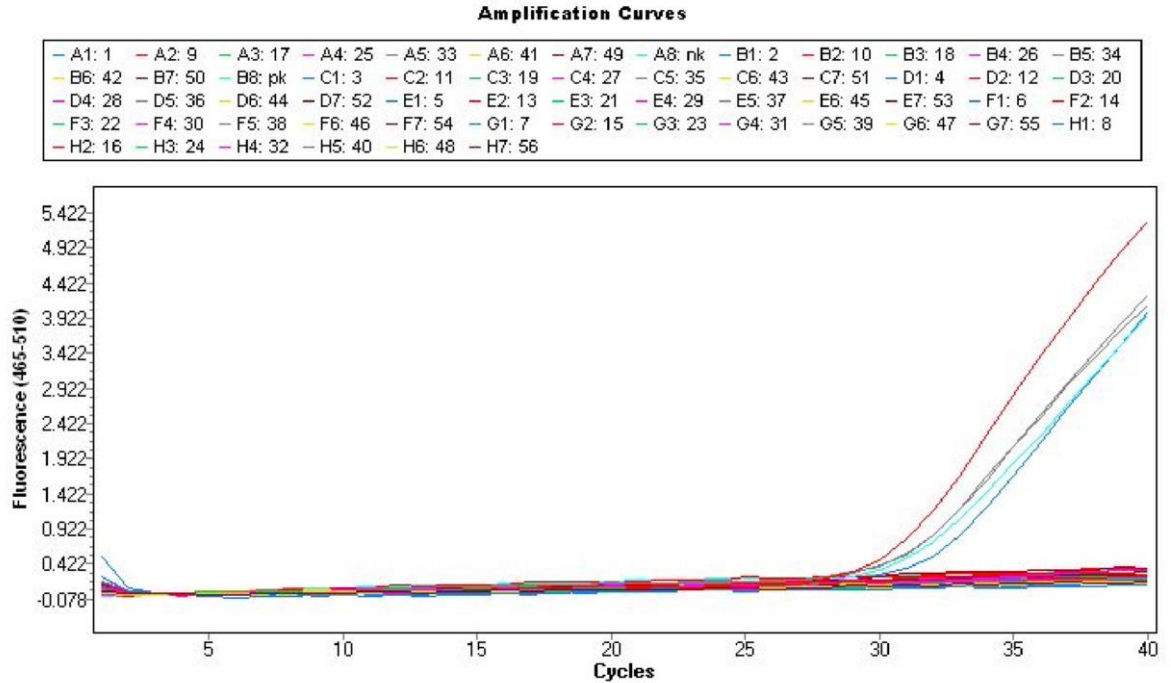
**Tablo 9.** Sığır abort numunelerin illere göre dağılımı ve pozitiflik oranları

<b>İller</b>	<b>Toplanan Örnek Sayısı</b>	<b>Pozitif Örnek Sayısı (%)</b>
İzmir	6	1 (16,66)
Manisa	13	2 (15,38)
Aydın	14	1 (7,14)
Muğla	9	0
Denizli	22	2 (9,09)
Uşak	18	2 (11,11)
Kütahya	6	0
<b>Toplam</b>	<b>88</b>	<b>8 (9,09)</b>

Test sonuçları kit içeriğinde belirtilen kriterlere göre yorumlanmış ve sonuçların güvenilir olduğu değerlendirilmiştir. Buna göre, kit içeriğinde bulunan pozitif kontrolün cycle threshold (Ct) değerine yakın örnekler ve pozitif kontrolde oluşan karakteristik eğriye yakın örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir. Buna göre, örneklerin iki gruba ayrılarak yapıldığı PZR testinde bulunan pozitif kontrollerin Ct değerleri 31.21 ve 31.14 olarak belirlenmiş olup; negatif kontrollerde ise herhangi bir değer gözlenmemiştir. Pozitif örneklere ait RT-PZR ile elde edilen Ct değerleri 32.80, 34.32, 28.33, 30.36, 31.97, 30.53, 31.02 ve 31.02 olarak bulunmuştur (Şekil 7a, Şekil 7b).



Şekil 7a. *Neospora caninum* Real-Time PZR amplifikasyon görüntüsü (1. test)



Şekil 7b. *Neospora caninum* Real-Time PZR amplifikasyon görüntüsü (2. test)

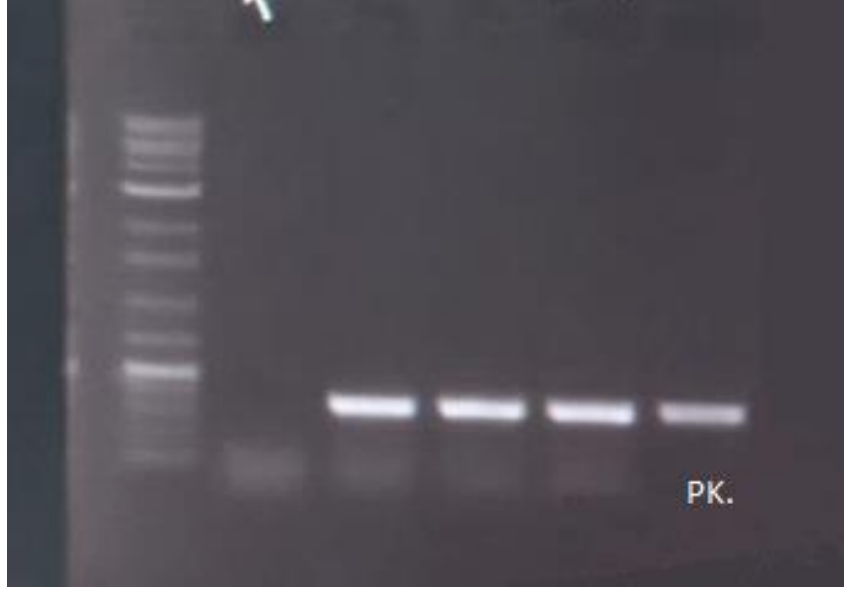
Pozitif örneklerden iki numune gebeliğin birinci trimester döneminde (2,5 ve 3 aylık) şekillenen aborte fetüse aitken, iki numunede gebeliğin üçüncü trimester döneminde (7,5 ve 8,5 aylık) oluşan aborte fetüse aittir. Pozitif bulunan diğer dört numune ise gebeliğin ikinci trimester döneminde (4 - 4 - 4,5 ve 5 aylık) oluşan aborte fetüslere aittir (Resim 4).



**Resim 4.** *Neospora caninum* pozitif beş aylık aborte fetüs (Orijinal fotoğraf).

#### **4.2.1. Konvansiyonel PZR ve Agaroz Jel Elektroforez Bulguları**

RT-PZR testi ile *N. caninum* yönünden pozitif bulunan 8 sığıra ait örneğe Tablo 4’de belirtilen primerler ve Tablo 6’de belirtilen protokol kullanılarak konvansiyonel PZR testi yapılmıştır. Konvansiyonel PZR işlemi sonrası ampliconların büyüklüğünü belirlemek için % 1,5’luk agaroz jelde yürütülmüştür. Çalışılan 8 örneğin 3’ünde *N. caninum*’a ait 330 bp’lik bantlar gözlenmiş olup beklenen büyüklükte ampliconlar elde edilmiştir (Resim 5).



**Resim 5.** Agaroz jelde pozitif örneklerde oluşan 300 bp uzunluğundaki bantlar (Orijinal fotoğraf)

#### **4.2.2. Dizileme ve Filogenetik Analiz Bulguları**

Bu tez çalışmasında bölgemizde bulduğumuz *N. caninum*'a ait nükleotid dizilerinin filogenetik grubunun dünyanın farklı coğrafyalarında bildirilen sekanslarla yakınlığını araştırmak amacıyla filogenetik ağaç çalışması yapılmıştır. Ayrıca filogenetik ağaç ile daha önceki çalışmalarda ve bu çalışmada elde edilen *N. caninum* izolatları ile hayvan türlerine göre (tavuk, rat, köpek, geyik, domuz, çakal, tavşan, kurt, serçe ve sığır) yakınlıklarda araştırılmıştır (Salehi ve diğerleri, 2021; Gharekhani ve diğerleri, 2022).

Aborte fetüs örneklerden *N. caninum* pozitif olarak tespit edilen 8 örnekten 3'üne dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Dizi analizi sonucunda 16S RNA geninin Nc5 gen bölgesinin 330 bp'lik uzunluğundaki bölgesinin dizisi elde edilmiş ve nükleotid BLAST ile dizilerin doğrulaması yapılmıştır (Tablo 10).

**Tablo 10.** Filogenetik çalışmada kullanılan pozitif örneklerden elde edilen izolatlar

<b>İZOLAT İSİMLERİ</b>	<b>Diziler</b>
<b>Neospora/BVKE1/TUR/2021</b>	GCGGACGTGTCGTTGTTGGGCGCAGCCTGCGGCAGCAAGGCTTTTTT TTGTTTGTGGCTATAGTGTGTGAACGGGTGAACCGAGGGAGTTGGTAG CGGTGAGAGGTGGGATACGTGGTTTGTGGTTAGTCATTCGTCACGTTG AAATGAGCCTGCGTCAGGGTGTGGACARTGTGTCAATGATACTTATCC AGAGTTCAGTGTCTGTGTTGAGGCAACACCGGCGGCACTGATG
<b>Neospora/BVKE2/TUR/2021</b>	TCGTTGTTGGGCGCAGCCTGCGGCAGCAAGGCTTTTTTTTTTGTGTTGG CTATAGTGTGTGAACGGGTGAACCGAGGGAGTTGGTAGCGGTGAGAG GTGGGATACGTGGTTTGTGGTTAGTCATTCGTCACGTTGAAATGAKCC TGCGTCAGGGTGTGGACAGTGTGTCAATGATACTTATCCAGAGTTCAG TGTCTGTGTTGAGGCAACACCGGCGGCACTGATGGCGGGGAGATTA TGCATAGGGAGCAAGCGGACGAGGGAAGGGCA
<b>Neospora/BVKE3/TUR/2021</b>	TCCCAGTGCGTCCAATCCTGTAACTGTTGCTCTGCTGACGTGTCGTTG TTGGGCGCAGCCTGCGGCAGCAAGGCTCCTTTTTTGTGTTGGCTATAG TGTGTGAACGGGTGAACCGAGGGAGTTGGTAGCGGTGAGAGGTGGGAT ACGTGGTTTGTGGTTAGTCATTCGTCACGTTGAAATCAGCCTGCGTCAG GGTGAGGACAGTGTGTCAATGATACTTACCGAGAGTTCAGTGTCTGTG TTGAGGCAACACCGGCGGCTGATGACGGGGGAGATTATGCATAGGG AGCAAGCGGACGAGGGAAGGGGCAGAAGACGTAGGTTGACTGGCGAG

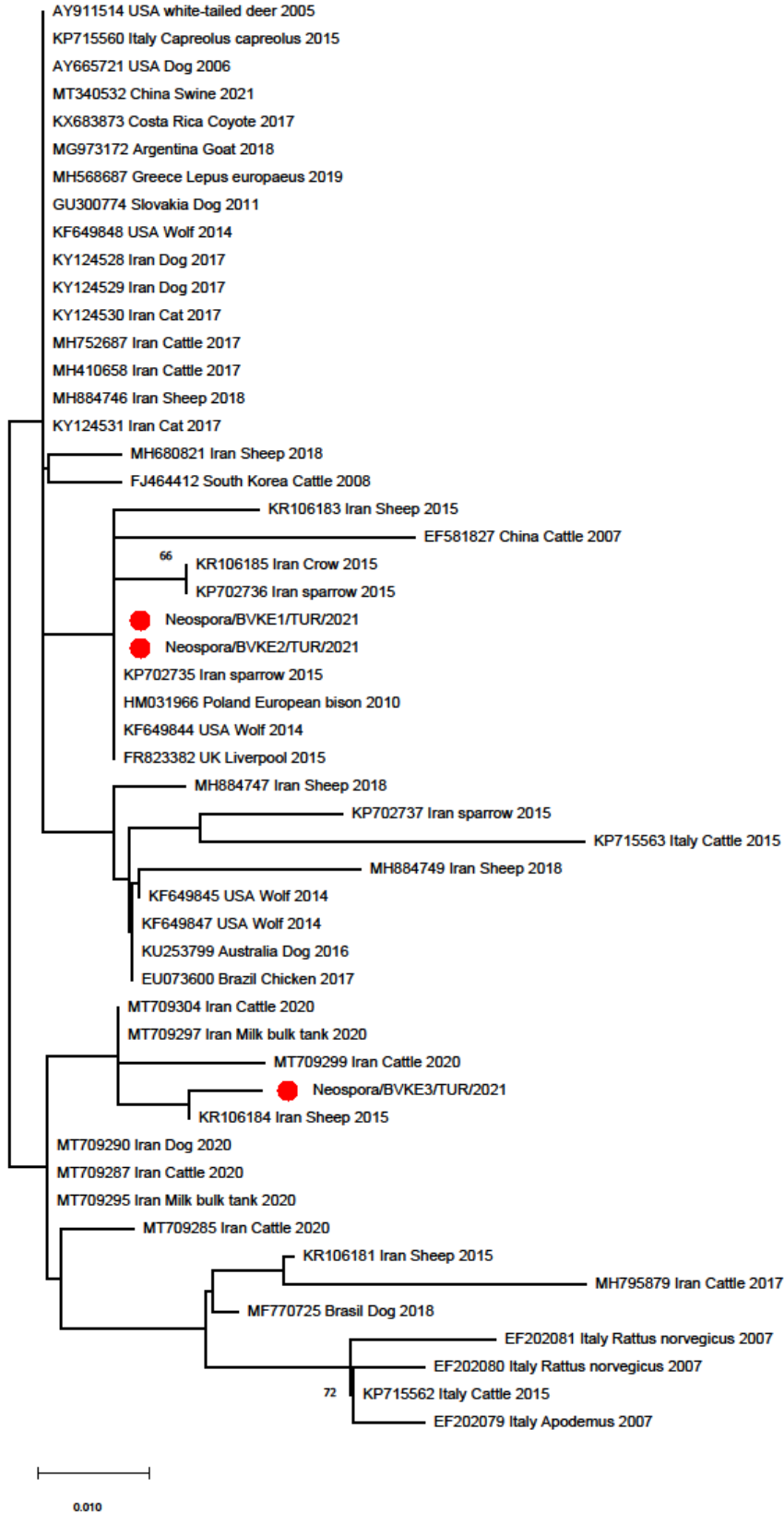
Bu tez çalışmasında pozitif örneklerden elde ettiğimiz *N. caninum* protozoonuna ait nükleotid dizilerine Neospora/BVKE1/TUR/2021, Neospora/BVKE2/TUR/2021 ve Neospora/BVKE3/TUR/2021 isimleri verilerek ve GenBank'a yüklenmiştir. Filogenetik çalışmada, tez örneklerinin yanısıra daha önceki çalışmalarda belirtilen ve GenBank'tan ulaşılan toplam 52 dizi filogenetik çalışmalarda kullanılmıştır. En iyi DNA/Protein modeli olarak T92+G model (Tamura-3) parametresi belirlenmiştir (Tamura ve diğerleri, 2013). Maximum-likelihood metodu kullanılarak oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 8' de sunulmuştur.

Çalışmamızın sonuçlarına göre analiz edilen toplam 52 örneğe ait *N. caninum* izolatu ile oluşturulan filogenetik ağaç temel olarak iki ana dala ayrılmış ve bunlar içerisinde farklı dallanmalar oluşmuştur (Şekil 8). Fakat filogenetik ağaç temel olarak iki ana dala ayrılmış olsa da bulduğumuz filogenetik dizilimlerin coğrafi olarak spesifik yakınlığı olan bir ülke olmadığı ve dünyanın birçok bölgesiyle benzerliğinin olduğu değerlendirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen Neospora/BVKE1/TUR/2021 ve Neospora/BVKE2/TUR/2021

izolatlarının aynı dalda yer aldığı, Neospora/BVKE3/TUR/2021'in ise diğer dalda yer aldığı gözlemlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda ve bu çalışmada elde edilen *N. caninum* izolatları farklı coğrafi bölgelere ve türlere göre (tavuk, rat, köpek, geyik, domuz, çakal, tavşan, kurt, serçe ve sığır) farklı gruplandırma göstermemiştir. Filogenetik analize göre dizi homoloji sonuçları Türkiye izolatları ile referans izolat Liverpool 2015 UK (FR823382) nükleotid benzerliğinin %96.26-99.8, birbirleriyle ise %96.29-100 benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 11). SDTv1.2 programı kullanılarak toplam 52 *N. caninum* izolatu analiz edilmiştir. İkili nükleotid benzerliği, %100 ile %93 aralığında değişmiştir.

**Tablo 11.** Örnekler ve kaynak izolat arasındaki benzerlik oranları

	<b>Nükleotid Dizisi</b>	1	2	3	4
1	<b>Neospora/BVKE1/TUR/2021</b>	100%			
2	<b>Neospora/BVKE2/TUR/2021</b>	98.76%	100%		
3	<b>Neospora/BVKE3/TUR/2021</b>	96.29%	96.29%	100%	
4	<b>FR823382_UK_Liverpool_2015</b>	99.38%	99.38%	96.91%	100%



Şekil 8. *Neospora caninum*' un Nc5 gen bölgesine göre filogenetik ağacı (Maximum-Likelihood, Tamura 3 parametresi, 1000 tekrarlı)



## 5. TARTIŞMA

Et, süt ve deri gibi ticari değeri olan ürünlerin üretimi için sürünün devamlılığını sağlayan damızlık buzağılar işletmeler için önemli ekonomik değere sahiptir (Tulu ve diğerleri, 2018). Süt hayvancılığında gelirleri süt üretimi ve yeni doğan yavrular oluştururken, besi hayvancılığında yeni doğan yavruların gelire katkısı daha fazladır. Doğrudan ya da dolaylı olarak tüm bu durumlar ele alındığında işletmelerin en büyük kazançlarının sağlıklı doğan yavrular olduğu bilinmektedir (Tulu ve diğerleri, 2018; Demir ve diğerleri, 2019). Sığırlarda abort, büyükbaş hayvancılık endüstrisindeki ekonomik kayıpların en önemli nedenlerinden biridir (Juyal ve diğerleri, 2011; Barkallah ve diğerleri, 2014). Abort nedenleri arasında bakteri, virus, protozoon ve mantar gibi çeşitli infeksiyöz ajanlar başta olmak üzere toksik ajanlar, ısı stresi, genetik, idiyopatik, metabolik veya hormonal anormallikler, beslenme yetersizlikleri ve travma gibi çok sayıda etken yer almaktadır (Barkallah ve diğerleri, 2014; Derdour ve diğerleri, 2017).

*Neospora caninum* sığırların en önemli protozoer abort etkenleri arasında olup ülkemizde de öncelikli paraziter abort etkeni olarak sayılmaktadır (Şentürk ve diğerleri, 2020). Büyükbaş hayvancılığın yoğun olduğu Ege Bölgesi'nde işletmelerin en önemli sorununun yavru atıkları ve neonatal buzağı ölümleri olduğu, fakat neosporosis ile ilgili çalışmanın yetersiz olduğu bilinmektedir (Yıldız ve diğerleri, 2009; Kul, 2012; Eşki ve Ütük, 2018; Erol ve diğerleri, 2019; Köse ve diğerleri, 2021; Limoncu, 2022).

Klinik belirtilerle neosporosis tanısının konulamaması ve hastalığın latent seyri, laboratuvar tanı yöntemlerinin geliştirilmesini sağlamıştır (Cerqueira-Cézar ve diğerleri, 2017; Tulu ve diğerleri, 2018; Lindsay ve Dubey, 2020). İmmunohistokimyasal ve çeşitli boyama yöntemleriyle etkenin ışık mikroskopunda histopatolojik teşhisinin yanısıra parazit DNA'sının saptanması amacıyla PZR tabanlı moleküler teknikler de sıklıkla kullanılmaktadır (Lindsay ve Dubey, 2020). Aynı zamanda tanıda birçok serolojik yöntem geliştirilmiş ve *N. caninum* antikoru ELISA, Sabin-Feldman Dye Test (SFDT), İndirekt Floresan Antikor Test (IFAT), Kompleman Fiksasyon Testi (CFT), İndirekt Hemaglutinasyon (IHA), Lateks Aglutinasyon Test (LAT) ve Modifiye Aglutinasyon Test (MAT) gibi yöntemlerle tespit edilmektedir (Kılıç, 1991; Silva ve diğerleri, 2007; Campero ve diğerleri, 2015; Lindsay ve Dubey, 2020; Limoncu, 2022).

Bu tez çalışmasında sığırlarda *N. caninum* antikorlarını tespit etmek için serolojik testler içerisinde en duyarlı yöntem olarak bilinen ELISA testi ile atık fetüslerde etkenin varlığını araştırmak için moleküler yöntem olan PZR kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında Ege Bölgesi'nin yedi ilinden toplamda 58 işletmeden 973 sığıra ait kan serumunun 122'sinde (%12,66) ELISA testi ile anti-*N. caninum* antikorları tespit edilmiştir. Yine yedi ilden enstitümüze gönderilen toplam 88 sığır atık fetüse ait beyin, kalp, karaciğer, akciğer, dalak ve böbrek dokularından oluşan doku havuzundan elde edilen DNA'ların 8'inde (%9,09) RT-PZR yöntemi ile *N. caninum* DNA'sı tespit edilmiştir. Elde edilen bu veriler Ege Bölgesi'nde sığırlarda aborta sebep olan etkenler arasında *N. caninum*'un önemli olduğunu ve neosporosis enfeksiyonunun Ege Bölgesi'nde sığırlarda muhtemel abort nedenleri arasında olduğunu göstermiştir. Bu tez çalışmasında RT-PZR ile pozitif bulunan *N. caninum* örneklerinin dizilim analizlerinin yapılabilmesi için geleneksel PZR analizleri yapılmıştır. Dizilim analizi işlemlerine tabii tutulan pozitif örneklerin filogenetik ağaçları oluşturulmuştur. Filogenetik ağaç çizimi ile bu çalışmada bulduğumuz izolatların birbirlerine olan uzaklıkları (akrabalık düzeyleri) incelenmiş ve tür teşhisleri desteklenmiştir. Nc5 gen bölgesiyle yapılan bu çalışmada bulduğumuz izolatlar dahil olmak üzere, çalışmada kullanılan toplam 52 izolat arasında benzerliğin güçlü olduğu görülmüştür. Moleküler çalışmalar *N. caninum* protozoonunun mutasyona uğramadan dünya genelinde farklı coğrafyalarda ve farklı hayvan türlerinde benzer olduğunu göstermiştir.

Dünyada birçok alanda ve birçok ajanın tespitinde kullanılan PZR tabanlı moleküler teknikler parazitoloji alanında da sıklıkla kullanılmaktadır (Pereira ve diğerleri, 2014; Lindsay ve Dubey, 2020). Bu moleküler teknikler yüksek duyarlılık ve özgünlüğe sahip diagnostik yöntemlerin gelişmesini sağlayarak hassas ve az miktarlardaki birçok organizmanın identifikasyonunda kullanışlı olmuştur (Salehi ve diğerleri, 2021). Son yıllarda yüksek özgünlüğe sahip bir yöntem olarak floresan tabanlı RT-PZR teknolojisi spesifik patojenlerin kalitatif olarak belirlenmesinin yanında kantitatif olarak da ölçümüne imkân sağlamasından dolayı sıklıkla kullanılmaktadır. Sığırların aborte fetüslerinde de *N. caninum* etkeninin varlığını belirlemek amacıyla moleküler tanı yöntemleri hem dünyada hem de ülkemizde sıklıkla kullanılmaktadır (Ortega-Mora ve diğerleri, 2006; Özkaraca ve diğerleri, 2017; Açııcı ve diğerleri, 2019; Salehi ve diğerleri, 2021; İrehan ve diğerleri, 2022; Şenel, 2022). Moleküler tanı yöntemleriyle neosporosisin teşhisinde primer organ beyin başta olmak üzere kalp, plasenta, karaciğer, akciğer ve böbrek gibi organlar da sıklıkla kullanılmaktadır (Lindsay ve Dubey, 2020).

Türkiye’de PZR yöntemi ile yapılan benzer çalışmalarda; 2014 yılında yıl boyunca Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsüne gönderilen 102 sığıra ait aborte fetüslerin beyin, kalp, karaciğer, akciğer, böbrek, dalak ve timus organlarını homojenizasyonu ile yapılan çalışmada 26 aborte fetüste (%25,49) PZR testi sonucu pozitif bulunmuştur (Özkaraca ve diğerleri, 2017). Bulunan pozitiflik oranının bizim çalışmamızda tespit ettiğimiz oranlardan yüksek olması çalışılan abort materyallerinin 4-7 ay arası fetüslerden seçilmiş olmasından yani örnekleminin olası pozitif materyaller üzerinde yoğunlaşmış olmasından kaynaklanmış olabilir. Neosporosisin gebeliğin ikinci trimester döneminde, gebeliğin ilk ve son dönemlerine göre çok daha fazla abort oluşturduğu bilinmekte olup yapılan bir çalışmada gebeliğin 4. ve 5. ayında bu oranın diğer aylardan çok daha fazla olduğu belirtilmiştir (Serrano-Martínez ve diğerleri, 2019). Nitekim bizim çalışmamızda da gebeliğin ikinci trimester döneminde bulduğumuz pozitif fetüs sayısı (n=4) birinci ve ikinci trimester döneminde bulduğumuz toplam pozitif fetüs sayısına (n=4) eşittir. İrehan ve diğerlerinin 2022 yılında PZR yöntemi ile yaptıkları çalışmada, Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü’ne Türkiye’nin Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerindeki 13 farklı ilden gönderilen 30 sığır aborte fetüse ait organların (beyin, kalp, karaciğer ve akciğer) homojenizasyonunun PZR testi sonucunda 2 (%6,66) örnekte pozitiflik bulunmuştur. İrehan ve diğerlerinin yaptığı bu çalışmada örneklem büyüklüğünün az olması ve rastgele örnekleme yöntemi ile tüm abort olgularında çalışma yapılmış olması, pozitiflik oranının düşük çıkmasında etkili olmuştur. Orta Karadeniz Bölgesinde PZR yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada 89 sığıra ait abort fetüslerin 44’ünde (%49,4) *N. caninum* DNA’sı tespit edilmiştir (Açııcı ve diğerleri, 2019). Araştırmacıların bulduğu bu oran, bizim Ege Bölgesi’nde tespit ettiğimiz oranlardan çok daha yüksektir. Bunun nedeni çalışmanın risk altındaki işletmelerde *N. caninum* seropozitif ineklerden toplanan fetüsler üzerinde yapılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim *N. caninum* ile enfekte olan hayvanlarda abort görülme olasılığı diğer hayvanlara göre 1.7 ile 7.4 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir. Abort olayı görülme bile transplasental bulaşma ile sürülerdeki seropozitiflik artmaktadır (Thurmond ve Hietala, 1997). B Marmara Bölgesi’nde yakın zamanda yapılan bir doktora çalışmasında PZR yöntemiyle toplam 84 sığır atık fetüsün 22’sinde (%26,19) *N. caninum* DNA’sı tespit edilmiştir (Şenel, 2022). Çalışmalar arasındaki farklılıkların çoğunlukla ekolojik ve coğrafik faktörlere bağlı olabileceği belirtilse de hayvanın ırkı, örnekleme dönemleri ve test yöntemlerine de bağlı olduğu belirtilmiştir (Qian ve diğerleri, 2017).

Ülkemize komşu İran'da *N. caninum* prevalansının PZR yöntemiyle çalışıldığı çok sayıda araştırma olduğu görülmektedir (Razmi ve diğerleri, 2006; Sadrebazaz ve diğerleri, 2007; Kamali ve diğerleri, 2014; Kaveh ve diğerleri, 2017; Amouei ve diğerleri, 2019; Salehi ve diğerleri, 2021; Gharekhani ve diğerleri, 2022). İran'da yapılan bu çalışmalarda aborte fetüslerin başta beyin dokuları olmak üzere, birçok doku ve organlarına ait homojenizatlar çalışmada kullanılmış ve %13 ile %45 arasında değişen pozitiflikler bulunmuştur. Brezilya'da Cabral ve diğerlerinin (2009) nested-PZR yöntemiyle yaptıkları çalışmada 105 sığır abort fetüsünün 7'sinde (%6,7) *N. caninum* DNA'sı tespit etmişlerken, Macedo ve diğerleri (2017) 36 sığır abort fetüse ait doku örneklerinin 14'ünde (%38,8) PZR ile pozitiflik bulmuşlardır. Moore ve diğerlerinin (2008) Arjantin'de yaptıkları çalışmada histopatolojik olarak neosporosis ile uyumlu 53 sığır abort fetüsün 17'sinde (%32,08) PZR ile *N. caninum* DNA'sını saptadıklarını bildirmişlerdir. İsviçre'deki sığır abortlarının etiolojisini araştırmak için Reitt ve diğerlerinin (2007) retrospektif olarak yaptıkları çalışmada 1986-1995 yılları arasında 347 adet sığır abort fetüsün histopatolojik olarak incelemesinde *N. caninum* ile uyumlu 223 fetüsün PZR testi ile 36'sında (%16,1) *N. caninum* DNA'sını tespit etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada yazarlar, abort fetüslere ait dokularda *N. caninum* antijeninin saptanmasında IHC'nin duyarlılığının, boyama artefaklarına bağlı olarak düşük olabileceğini de belirtmişlerdir (Reitt ve diğerleri, 2007). Serrano-Martínez ve diğerlerinin (2019) Peru Lima bölgesinde yedi işletmede 68 sığır abort fetüsünün 11'inde (%16,17) *N. caninum* DNA'sı tespit etmişlerdir. Peru'da yapılan bu çalışmada araştırmacılar, abort fetüslere ait dokularda *N. caninum* etkeninin saptanmasında PZR ve ELISA yönteminin IHC'nin test yöntemine göre daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Yine yapılan bazı araştırmalarda da *N. caninum* antijeninin tespiti için IHC duyarlılığının düşük olabileceği vurgulanmıştır (Wouda ve diğerleri, 1997; Schares ve diğerleri, 1999; Dubey, 1999; Serrano-Martínez ve diğerleri, 2019). Bu nedenle son yıllarda yapılan çalışmalarda daha sık tercih edilen yöntemin PZR yöntemi olduğu söylenebilir. Türkiye'ye komşu İran ve Dünya'nın farklı ülkelerinde yapılan tüm bu çalışmalar, bu tez çalışmasında kullanılan örnekleme yöntemi ve kullanılan PZR tekniği ile yakınlık göstermektedir. Fakat Dünya'da ve Türkiye'de yapılan çalışmalarda elde edilen bu sonuçların değişkenlik göstermesi; çalışmaların farklı coğrafik bölgelerde yapılmış olması, sığır ırkları ve yetiştirme şartları, örnek sayısı ve örnekleme zamanı, incelenen dokunun türü, miktarı, etken yoğunluğu, *N. caninum* ile ilişkili risk faktörlerinin varlığı (son konak popülasyonu) ve kullanılan testlerin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Serrano-Martínez ve diğerleri, 2019; Gharekhani ve Yakhchali, 2020; Lindsay ve Dubey, 2020). Plasenta, abort olmuş fetüs veya uterus atıkları ile sakatat organlarının köpekler

tarafından tüketilerek postnatal enfeksiyon kaynağı oluşturması yani biyolojik döngünün devamlılığı, *N. caninum* yaygınlığının yüksek bulunmasında önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir. (Serrano-Martínez ve diğerleri, 2019; Salehi ve diğerleri, 2021; Abdeltif ve diğerleri, 2022). Ülkemizde aile tipi hayvancılık işletmelerinde son konak kontrolü tam manasıyla yapılamamakta ve son konak köpekler işletmenin heryerinde rahatlıkla dolaşım sağlamaktadır. Yine ülkemizde aile tipi işletmelerde bulunan büyükbaş hayvanlar, sahihsiz köpeklerinde sıklıkla gezdiği meralarda otlatılmakta ve ookist kontaminasyonu kaçınılmaz bir durum haline dönüşmektedir. Bu tez çalışmasında da elde edilen bulgularda aile tipi işletmelerin, entegre hayvancılık işletmelerine göre daha yüksek pozitiflik oranlarına sahip olması, dünya genelinde yapılan diğer çalışmaları destekler niteliktedir.

Serolojik çalışmalar, etkenin latent seyri ve persiste doğan buzağılardan dolayı abort nedenini kesin olarak ifade etmese de; *N. caninum*'a bağlı olası abort yaygınlığının araştırılması ve annenin olası *N. caninum* etkeni taşıyor olması hakkında doğru ve güvenilir sonuçlar vermektedir (Cerqueira-Cézar ve diğerleri, 2017; Tulu ve diğerleri, 2018). *Neospora caninum*'un yaygınlığının araştırılması amacıyla birçok serolojik test kullanılsa da sığırlarda yapılan serolojik çalışmaların çoğunluğunda ELISA ve IFA testlerinin kullanıldığı bildirilmiştir. Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde büyükbaş hayvanlarda *N. caninum* prevalansını belirlemek amacıyla farklı yöntemler (c-ELISA, i-ELISA, IFAT) kullanılarak çok sayıda serolojik tarama yapılmıştır (Kul, 2012; Eşki ve Ütük, 2018; Erol ve diğerleri, 2019; Demir ve diğerleri, 2020; Köse ve diğerleri, 2021; Limoncu, 2022). Bu çalışmalarda; Ege Bölgesi'nde Yıldız ve diğerlerinin (2009) İzmir'in de içinde bulunduğu üç ilde yaptıkları çalışmada toplam 557 sığırın 60'ında (%10,77), Çelik ve diğerlerinin (2013) Afyonkarahisar'da yaptıkları çalışmada 485 sığırın 102'sinde (%21,03), Erol ve diğerlerinin (2019) Ege Bölgesi'nde dört ilin de (Denizli, İzmir, Manisa ve Muğla) içinde bulunduğu bir çalışmada 126 sığıra ait kan serumlarının 35'inde (%27,77), Erol ve Ütük'ün (2020) İzmir ilinde atık problemi olan bir süt sığırcılığı işletmesinde yaptığı çalışmada 142 sığırdan 52'sinde (%36,6) anti-*N. caninum* antikoru tespit edilmiştir. Yine İzmir ilinde ithal sığırlar üzerinde yapılan bir çalışmada araştırmaya dâhil olan 613 sığırdan SRS2 indirekt ELISA yöntemi ile 52 pozitiflik (%8,5) bulunurken aynı örnekler ticari ELISA kiti ile incelendiğinde 25 örnekte (%4,1) pozitiflik saptanmıştır. Aynı çalışmada ırk, menşei ve sığırın inek ya da düve olması açısından istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmemiştir (Limoncu, 2022). Ülkemizin diğer bölgelerinde yapılan çalışmalarda ise; Akdeniz Bölgesi'nde %5,3-25 (Öcal ve diğerleri, 2014; Eşki ve Ütük, 2018; Erol ve diğerleri, 2019; Köse ve diğerleri, 2021), Marmara Bölgesi'nde

%8-33,3 (Öncel ve Bıykoğlu 2003; Bıykoğlu ve diğerleri, 2005; Eşki ve diğerleri, 2016; Erol ve diğerleri, 2019; Kasap ve diğerleri, 2020), İç Anadolu Bölgesi'nde %2-37,7 (Bıykoğlu ve diğerleri, 2001; Vural ve diğerleri, 2006; İça ve diğerleri, 2006; Pişkin ve Ütük, 2009; Aytekin ve diğerleri, 2013; Öcal ve diğerleri, 2014; Karatepe ve Karatepe 2016, Yıldız ve diğerleri, 2017; Erol ve diğerleri, 2019; Kula ve Gökpinar, 2021), Doğu Anadolu Bölgesi'nde %2-10,65 (Akça ve diğerleri, 2005; Aktaş ve diğerleri, 2005; Şimşek ve diğerleri, 2008; Alan ve diğerleri, 2011; Mor ve Akça, 2012; Balkaya ve diğerleri, 2012, Erol ve diğerleri, 2019), Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde %7,5-33 (Sevgili ve diğerleri, 2005; Erol ve diğerleri, 2019) ve Karadeniz Bölgesi'nde ise %10,77-22,7 (Yıldız ve diğerleri; 2009; Kaya ve diğerleri, 2011; Erol ve diğerleri, 2019) oranlarında olduğu görülmektedir. Ayrıca Karadeniz Bölgesi'nde mandalar üzerinde yapılan bir çalışmada 82 mandanın 23'ünde (%28,04) *N. caninum* antikorları bulunmuştur (Albayrak ve diğerleri, 2012). Türkiye'de yapılan tüm bu çalışmaların değerlendirildiği, Eşki ve Ütük'ün 2018 yılına kadar *N. caninum* seroprevalans araştırmalarını kapsayan bir çalışmada ülkemizde sığırlar üzerinde ortalama prevalans %13,06 (1023/7830) olduğu belirlenmiştir. Demir ve diğerlerinin (2020) yaptığı benzer bir çalışmada ise 2020 yılına kadar Türkiye'de sığırlar üzerinde yapılan tüm serolojik çalışmalar değerlendirilmiş ve *N. caninum*'un ortalama seroprevalansı %14,7 (1672/11.373) olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan tüm bu serolojik çalışmaları değerlendirdiğimizde bizim ELISA tekniği ile bulduğumuz %12,66 oran ülkemizin diğer bölgelerinde yapılan serolojik çalışmalara yakın olduğu fakat daha önce Ege Bölgesi'nde bu büyüklükte örneklem sayısı ile kapsamlı bir çalışma yapılmamış olmasının bölgedeki *N. caninum* antikor varlığının önemli olduğunu ortaya koymuştur.

Dünya'nın farklı bölge ve ülkelerinde sığırlarda çeşitli serolojik yöntemlerle yapılan çok sayıda çalışma vardır. *Neospora caninum* prevalansı Afrika'da %3,4-36,2 (Ayinmode ve diğerleri, 2017; Abdeltif ve diğerleri, 2022), Asya'da %2-70 (Kashiwazaki ve diğerleri, 2001; Kula ve Gökpinar, 2021), Avrupa'da %0,5-65 (Dubey ve diğerleri, 2007; Bártová ve diğerleri, 2015), Avustralya'da %2,7-53 (Dubey ve diğerleri, 2007; Nasir ve diğerleri, 2012), Güney Amerika'da %6,7-97,2 (Ragozo ve diğerleri, 2003; Guedes ve diğerleri, 2008) ve Kuzey Amerika'da ise %5,2-79 (McAllister ve diğerleri, 2000; Khaita ve diğerleri, 2006) oranları arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda *N. caninum* seropozitiflik prevalansı %0,5 ile %97,2 arasında değişen geniş bir aralığa sahiptir. Yine son yıllarda, farklı ülkelerde çeşitli epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır ve seroprevalans, süt ve besi sığırlarının yanı sıra abort yapan ve abort yapmayan sığır popülasyonlarında da değişiklik göstermiştir.

Türkiye’de 2017 yılında yapılan bir doktora çalışmasında sığırlarda abort etkenlerini araştırılmış ve başlıca viral etkenlerin Bovine Viral Diyare (BVD), Sığırların Bulaşıcı Rinotrakeitisi (IBR) ve Mavi Dil hastalıkları olduğu ve bu hastalıkların 2017 yılına kadar yapılan çalışmalarda prevalansının %14 ile %81 arasında değiştiği bildirilmiştir. Yine aynı doktora çalışmasında aborta neden olan başlıca bakteriyel etkenlerin *Campylobacter fetus*, *Brucella spp.*, *Mycobacterium bovis*, *Leptospira spp.*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Histophilus somni* ve *Mycoplasma spp.* olduğu ve prevalans aralığının %4 ile %80 arasında değiştiği belirtilmiştir (Demeli 2017). Ülkemizde 2020 yılına kadar sığırlar üzerinde yapılan tüm çalışmaların sonucunda ortalama *N. caninum* seroprevalansı %14,7 (1672/11.373) olarak belirtilmiş olsa da 2022 yılına kadar yapılan tüm çalışmalarda prevalansın %2 ile %49,4 arasında değiştiği görülmüştür (Akça ve diğerleri, 2005; Eşki ve Ütük, 2018; Açıcı ve diğerleri, 2019; Demir ve diğerleri, 2020; Kula ve Gökpınar, 2021). Paraziter, viral ve bakteriyel etkenlerin haricinde bakım, beslenme ve barınma şartları, stres (aşılama çalışmaları vb.), iklim ve coğrafi koşullarında ülkedeki sığır abortlarına katkısının önemli olduğu bilinmektedir. Fakat *N. caninum* etkenine bağlı abortlara özellikle işletmelerdeki son konak köpeklerin varlığı başta olmak üzere birçok olumsuz faktörde sebep olmaktadır. Özellikle son konak köpeklerin sığırlarla aynı ortamda olması, köpekgillerin dışkılarıyla yem ve suları kontamine etmesi enfeksiyonun yayılmasında etkili olduğu düşünülmektedir (Dubey ve diğerleri, 2007; Kaltungo ve Musa, 2013). Sığır yetiştirme sistemlerinin türü ve yönetim stratejileri *N. caninum* yaygınlığını etkileyebilen risk faktörleri arasındadır. Yapılan çalışmalarda entegre çiftliklerdeki *N. caninum* seroprevalansının kırsal aile çiftliklerindeki göre daha düşük olduğu belirtilmiştir. Kırsalda aile çiftliklerindeki sığırların *N. caninum* ile enfekte kontrolsüz köpeklere temasının, entegre çiftliklerdeki sığırlara göre daha fazla olduğunu ve bu köpeklerle teması olan sığırlarında etkene maruz kalma riskinin arttığı belirtilmiştir (Öcal ve diğerleri, 2014; Noori ve diğerleri, 2019). Yaptığımız bu çalışmada aile tipi işletmelerdeki pozitiflik yüzdesi entegre çiftliklere göre yüksek bulunmuş ve istatistiki açıdan önemli olduğu görülmüştür (P<0,05). Bu durumun başlıca sebebinin aile işletmelerindeki kontrolsüz köpek dolaşımının etkili olduğu düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında *N. caninum*’un filogenetik grubunun dünyanın farklı coğrafyalarında bildirilen sekanslarla yakın ilişkili olduğu görülmektedir. Analiz edilen toplam 52 örneğe ait *N. caninum* izolatının ikili nükleotid benzerliğinin, %100 ile %93 aralığında değiştiği görülmüştür (Şekil 5). Daha önceki çalışmalarda ve bu çalışmada elde

edilen *N. caninum* izolatları farklı coğrafi bölgelere ve türlere göre (tavuk, rat, köpek, geyik, domuz, çakal, tavşan, kurt, serçe ve sığır) farklı gruplandırma göstermemiştir (Salehi ve diğerleri, 2021; Gharekhani ve diğerleri, 2022). Çalışmamızın sonuçlarına göre analiz edilen toplam 52 örneğe ait *N. caninum* izolatu ile oluşturulan filogenetik ağaç temel olarak iki ana dala ayrılmış ve bunlar içerisinde farklı dallanmalar oluşmuştur (Şekil 4). Fakat filogenetik ağaç temel olarak iki ana dala ayrılmış olsa da bulduğumuz filogenetik dizilimlerin coğrafi olarak spesifik yakınlığı olan bir ülke olmadığı ve dünyanın birçok bölgesiyle benzerliğinin olduğu değerlendirilmiştir. Öte yandan türler arasında da benzerliğin olduğu yabani hayat ve kentsel bölgede yaşayan evcil hayvanlardaki genetik benzerliklerin olduğu görülmüştür.

Tüm bu veriler ışığında Ege Bölgesi'nde sığırlarda aborta sebep olan etkenler arasında *N. caninum*'un önemli olduğunu ve neosporosis enfeksiyonunun Ege Bölgesi'nde sığırlarda muhtemel abort nedenleri arasında olduğunu göstermektedir. Öte yandan tüm bu veriler Dünya genelinde görülen kontrolsüz hayvan hareketleri ve yaban hayvanları ile bir bölge ya da ülkedeki *N. caninum* etkeninin diğerlerine kolayca taşınmasına olanak sağladığı ihtimallerini güçlü kılmaktadır. Elde edilen bu bilgilere ek olarak ülkemizdeki *N. caninum* etkeninin filogenetik dağılımının kesin olarak belirlenmesine yönelik yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu ve yapmış olduğumuz bu çalışmanın ileride yapılacak araştırmalara da ışık tutacağı kanaatindeyiz. Ayrıca bu bulgulara göre hastalıkla ilgili mücadele stratejilerinin belirlenmesi ve son konakları da içeren daha kapsamlı çalışmalar yapılması önem arz etmektedir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmayla Türkiye’de ve dünyanın birçok ülkesinde sığır abortlarının önde gelen sebeplerinden biri olan *N. caninum*’un Ege Bölgesi’ndeki yedi ilde sığır abortları üzerine olan etkisi kapsamlı şekilde ve farklı tanı yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Bu çalışmada yaklaşık bir yıllık süre içerisinde İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü sorumluluk sahasına giren illerden gelen 88 adet aborte sığır fetüsün 8’i (%9,09) RT-PZR tekniği ile pozitif bulunmuştur. Ayrıca ELISA tekniği ile 973 sığıra ait kan serumlarının 122’si (12.66%) anti-*N. caninum* yönünden pozitif bulunmuştur. Ege Bölgesi illerinde *N. caninum* ile ilgili problem yaşayan sığırcılık işletmelerinin güncel durumu ve *N. caninum* kaynaklı abortlar hakkında kapsamlı epidemiyolojik veri elde edilmiştir. Bu bağlamda Ege Bölgesi illerinde sığır abort vakalarının muhtemel önde gelen nedenleri arasında *N. caninum*’un da olabileceği ve neosporosis hastalığının bölgede daha kapsamlı araştırılması gerekliliği ortaya konmuştur.

Bu tez çalışmasında yapılan moleküler analizler ile Ege Bölgesi’nde pozitif olarak tespit edilen örneklerden *N. caninum* protozoonlarının moleküler karakterizasyonu yapılarak *N. caninum*’un genetik çeşitliliği ve farklı ülkeler ile genetik yakınlığı belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre bulduğumuz filogenetik dizilimlerin coğrafi olarak spesifik yakınlığı olan bir ülke olmadığı ve dünyanın birçok bölgesiyle benzerliğinin olduğu ortaya konmuştur. *Neospora caninum* etkeninin antikor varlığı yönünden cinsiyet, yaş aralığı ve hayvanların ithal ya da yerli olmasını içeren risk faktörlerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın olmadığı fakat örnekleme yapılan işletme tipine göre yapılan çalışmalarda işletme tiplerinin anti-*N. caninum* antikorlarının varlığı yönünden önemli olduğu sonucuna varılmıştır. Elde edilen sonuçlar ışığında *N. caninum* etkeninin olası risk faktörlerine göre pozitiflik durumları değerlendirildiğinde, büyükbaş hayvancılık işletmelerinin son konak köpeklerin serbest dolaşımına izin vermeyen entegre ve planlı bir yapıda olmasının hastalığı önlemede önemli olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte özellikle aile tipi işletmelere ait köpeklerin paraziter mücadelesi düzenli aralıklarla yapılmalı, köpeklerin atık fetüs kalıntılarını yemeleri ve sahipsiz köpeklerin işletme veya yem depo alanlarına girişleri engellenmelidir. Öte yandan gebe sığırların bağışıklık sistemlerini baskılayacak durumlardan kaçınılmalı, sürüdeki tüm hayvanlar düzenli aralıklarla serolojik yönden taranmalı ve seropozitif ineklerin damızlıktan çıkarılması gerekmektedir. Böylelikle işletmelerin devamlılığı *N. caninum* etkeni taşımayan

sağlıklı dvelerle sağlanmalıdır. Ülkemizde neosporosis ilgili muhtemel abort vakaları ve buzağı kayıplarının önlenmesi için koruma, kontrol ve mücadele stratejilerinin belirlenmesi ve son konakları da içeren daha kapsamlı çalışmalar yapılmasının da önemli olacağı kanaatine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Abdeltif, B., Tennah, S., Derdour, S.Y., Temim, A., Boufendi, H., Ghalmi, F. (2022). The first study on seroprevalence and risk factors of *Neospora caninum* infection in pregnant local cows from Northeast Algeria. *Veterinary World*, 15(2), 442-448. doi:10.14202/vetworld.2022.442-448.
- Açııcı, M., Bölükbaş, C.S., Pekmezci, G.Z., Gürler, H., Genç, O., Gürler, S., ... Umur, Ş. (2019). A diagnostic survey of *Neospora caninum* infection in aborted fetuses in the Middle Black Sea Region and Sivas Province, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 43, 761-766. doi:10.3906/vet-1908-16
- Akca, A., Gokce, H.I., Guy, C.S., McGarry, J.W., Williams, D.J.L. (2005). Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in local and imported cattle breeds in the Kars province of Turkey. *Research in Veterinary Science*, 78(2), 123-126. doi:10.1016/j.rvsc.2004.08.006
- Aktaş, M., Şaki, C.E., Altay, K., Şimşek, S., Ütük, A.E., Köroğlu, E., Dumanlı, N. (2005). Doğu Anadolu Bölgesinin Bazı İllerinde Bulunan Sığırlarda *Neospora caninum*'un Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 29(1), 22-25.
- Alan, M., Çetin, Y., Şendağ, S., Akkan, H.A., Karaca, M. (2011). Seroprevalence of antibodies against *Neospora caninum* in cows in Van Province. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(5), 767-771.
- Albayrak, H., Ozan, E., Turan, H.M., Cavunt, A. (2012). A Serological Investigation of Some Etiological Agents Associated with Abortion in Domestic Water Buffalo (*Bubalus bubalis* Linnaeus, 1758) in the Samsun Province of Northern Turkey. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 7(1), 155-160.
- Almeria, S., De Marez, T., Dawson, H., Araujo, R., Dubey, J.P., Gasbarre, L.C. (2003). Cytokine gene expression in dams and foetuses after experimental *Neospora caninum* infection of heifers at 110 days of gestation. *Parasite Immunology*, 25(7), 383-392. doi:10.1046/j.1365-3024.2003.00645.x
- Almeria, S. ve López-Gatius, F. (2013). Bovine neosporosis: Clinical and practical aspects. *Research in Veterinary Science*, 95(2), 303-309. doi:10.1016/j.rvsc.2013.04.008

- Altschul, S.F, Gish, W, Miller, W, Myers, E.W, Lipman, D.J. (1990). Basic local alignment 3 search tool. *Journal of molecular biology*, 215, 403-410. doi: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.
- Amouei, A., Sharif, M., Sarvi, S., Bagheri Nejad, R., Aghayan, S.A., Hashemi-Soteh, M.B., ... Daryani, A. (2019). Aetiology of livestock fetal mortality in Mazandaran province, Iran. *PeerJ*, 6, e5920. doi:10.7717/peerj.5920
- Anderson, M.L., Blanchard, P.C., Barr, B.C., Dubey, J.P., Hoffman, R.L., Conrad, P.A. (1991). *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 198(2), 241-244.
- Anderson, M.L., Andrianarivo, A.G., Conrad, P.A. (2000). Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science* 60–61, 417-431. doi:10.1016/S0378-4320(00)00117-2
- Aydın, L. (2016). Sığırlarda Neosporosis. M.A. Özcel (Ed.), *Veteriner hekimliğinde parazit hastalıkları 1* içinde (2. bs., ss. 65-70), İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını No:24.
- 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. *African Journal of Infectious Diseases*, 11(2), 95–101. doi:10.21010/ajid.v11i2.13
- Aytekin, H., Kamburgil, K., Handemir, E., Altınöz, F. (2013). Konya Yöresindeki Sığırlarda *Neospora caninum*'un Yaygınlığının Serolojik Olarak Araştırılması. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 24(2), 49-53.
- Balkaya, İ., Bastem, Z., Avcioglu, H., Onalan, S.K. (2012). Seroprevalence of *Neospora caninum* Antibodies in Cattle in Eastern Turkey. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 67(2), 109-112.
- Barber, J.S., Holmdahl, O.J.M., Owen, M.R., Guy, F., Uggla, A., Trees, A.J. (1995). Characterization of the first European isolate of *Neospora caninum*. *Parasitology*, 111: 563-568.
- Barkallah, M., Gharbi, Y., Hassena, A.B., Slima, A.B., Mallek, Z., Gautier, M., ... Fendri, I. (2014). Survey of Infectious Etiologies of Bovine Abortion during Mid- to Late Gestation in Dairy Herds. *PLoS ONE*, 9(3), e91549. doi:10.1371/journal.pone.0091549

- Barr, B.C., Rowe, J.D., Sverlow, K.W., BonDurant, R.H., Ardans, A.A., Oliver, M.N., Conrad, P.A. (1994). Experimental Reproduction of Bovine Fetal *Neospora* Infection and Death with a Bovine *Neospora* Isolate. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 6(2), 207–215. doi:10.1177/104063879400600212
- Bartley, P.M., Guido, S., Mason, C., Stevenson, H., Chianini, F., Carty, H., ... Katzer, F. (2019). Detection of *Neospora caninum* DNA in cases of bovine and ovine abortion in the South-West of Scotland. *Parasitology*, 146(7), 979-982. doi:10.1017/s0031182019000301
- Bártová, E., Sedlak, K., Budíková, M. (2015). A study of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibody seroprevalence in healthy cattle in the Czech Republic. *Annals Of Agricultural And Environmental Medicine*, 22(1), 32-4. doi:10.5604/12321966.1141365.
- Baszler, T.V., Gay, L.J., Long, M.T., Mathison, B.A. (1999). Detection by PCR of *Neospora caninum* in fetal tissues from spontaneous bovine abortions. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(12), 4059-64. doi:10.1128/JCM.37.12.4059-4064.1999.
- Bıyıkoğlu, G., Aksoy, E., Bozkır, M., Küçükayan, U., Ertürk, A. (2001). İç Anadolu Bölgesi sığırlarında *Neospora caninum*'un varlığının araştırılması. 12. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Elazığ, Türkiye.
- Bıyıkoğlu, G., Öncel, T., Bağcı, Ö. (2005). Serological Survey of *Neospora caninum* Infection. *The Indian veterinary journal* 82(3), 345-346.
- Cabral, A.D., Camargo, C.N., Galleti, N.T., Okuda, L.H., Pituco, E.M., Fava, C.D. (2009). Diagnosis of *Neospora caninum* in bovine fötuses by histology, immunohistochemistry, and nested-PCR. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 18(4), 14-9. doi:10.4322/rbpv.01804003
- Cayvaz, M. ve Karatepe, M. (2011). Niğde Yöresi Keçilerinde *Neospora caninum*'un Seroprevalansı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(6), 935-939. doi:10.9775/kvfd.2011.4724
- Campero, L.M., Minke, L., Moré, G., Rambeaud, M., Bacigalupe, D., Moore, D.P., ... Venturini, M.C. (2015). Evaluation and comparison of serological methods for the detection of bovine neosporosis in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(4), 295–301. doi:10.1016/j.ram.2015.07.002

- Cerqueira-Cézar, C.K., Calero-Bernal, R., Dubey, J.P., Gennari, S.M. (2017). All about neosporosis in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 26(3), 253–279. doi:10.1590/s1984-29612017045
- Çelik, H.A., Kozan, E., Eser, M., Yılmaz, O., Birdane, M.K., Sarımeahmetoğlu, H.O. (2013). A research on seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle . *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi*, 60(2), 99-102 . doi:10.1501/Vetfak\_0000002560
- Demeli, A. (2017). *Türkiye’de sığır ve koyunlarda görölen yavru atma olgularının karşılaştırmalı olarak değeriendirilmesi*. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Demir, A.P., Aydın, E., Ayvazođlu, C. (2019). Estimation of the Economic Losses Related to Calf Mortalities Kars Province, in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi*, 25(3), 283-290. doi:10.9775/kvfd.2018.20471
- Demir, A.P., Eşki, F., Ütük, A.E. (2020). Estimating the total economic costs of *Neospora caninum* infections in dairy cows in Turkey. *Tropical Animal Health and Production*, 52:3251–3258. Doi: 10.1007/s11250-020-02351-1.
- Derdour, S.Y., Hafsi, F., Azzag, N., Tennah, S., Laamari, A., China, B., Ghalmi, F. (2017). Prevalence of the main infectious causes of abortion in dairy cattle in Algeria. *Journal of Veterinary Research*, 61(3), 337-343. doi:10.1515/jvetres-2017-0044
- Dijkstra, T., Barkema, H.W., Eysker, M., Wouda, W. (2001). Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. *International Journal for Parasitology*, 31(2), 209–215. doi:10.1016/s0020-7519(00)00160-0
- Duarte, P.O., Oshiro, L.M., Zimmermann, N.P., Csordas, B.G., Dourado, D.M., Barros, J.C., Andreotti, R. (2020). Serological and molecular detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in human umbilical cord blood and placental tissue samples. *Scientific Reports*, 10(1), 9043. doi:10.1038/s41598-020-65991-1
- Dubey, J. P. (1999). Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, 84(3-4), 349–367. doi:10.1016/s0304-4017(99)00044-8
- Dubey, J. P. (1999a) Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 214: 1160-1163
- Dubey, J.P., (2003). Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean Journal Parasitology*, 41: 1-16. doi: 10.3347/kjp.2003.41.1.1

- Dubey, J.P., Hattel, A.L., Lindsay, D.S., Topper, M.J. (1988). Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 193(10), 1259-63.
- Dubey, J.P., Hemphill A., Calero-Bernal R., Schares G. (2017). *Neosporosis in animals*. Boca Raton Florida, USA: CRC Press.
- Dubey, J. P., Hughes, H. P. A., Lillehoj, H. S., Gamble, H. R., Munday, B. L. (1987). Placental transfer of specific antibodies during ovine congenital toxoplasmosis. *American Journal of Veterinary Research*, 48: 474-476.
- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Anderson, M.L., Davis, S.W., Shen, S.K. (1992). Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201(5), 709-713.
- Dubey, J.P. ve Schares, G. (2006). Diagnosis of bovine neosporosis. *Veterinary Parasitology*, 140, 1–34. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.03.035.
- Dubey, J.P., Schares, G., Ortega-Mora, L.M. (2007). Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 323-67. doi:10.1128/CMR.00031-06
- Erol, U., Danyer, E., Tuncer, S., Korkmaz, Ç., Deniz, A. (2019). Atık Yapan Sığırlarda Anti-*Neospora caninum* Antikorlarının Yaygınlığının Araştırılması. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 30(1), 78-81. doi:10.35864/evmd.549209
- Erol, U. ve Ütük, A.E. (22-24 Ekim 2020). *İzmir ilinde atık problemi olan bir süt sığırcılık işletmesinde anti-Neospora caninum antikorlarının varlığının araştırılması* [bildiri]. Dördüncü Uluslararası Mersin Sempozyumu, Mersin, Türkiye.
- Eşki, F., Demir, P., Babür, C., Ütük, A.E. (2018). Türkiye'nin Adana Yöresindeki Koyunlarda *Toxoplasma gondii* ve *Neospora caninum* Seroprevalansının Araştırılması. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 29(1), 19-23. doi:10.35864/evmd.512899
- Eşki, F., Önat, K., Günaydın, E., Pekkaya, S., Çetin, N., Ütük, A.E. (2016, 26-28 October). *Detection of Neospora caninum, Toxoplasma gondii, Chlamydophila abortus and Coxiella burnetti antibodies in aborted Holstein Cows* [bildiri]. 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress, Adana, Turkey.
- Eşki, F. ve Ütük, A.E. (2018). Detection of Anti-*Neospora caninum* Antibodies in Cattle in Adana Province of Turkey. *Van Veterinary Journal*, 29(2), 93-99.

- Filho, P.C.G.A., Oliveira, J.M.B., Andrade, M.R., Silva, J.G., Kim, P.C.P., Almeida, J.C., ... Mota, R.A. (2017). Incidence and vertical transmission rate of *Neospora caninum* in sheep. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 52, 19–22. doi:10.1016/j.cimid.2017.05.006
- Gharekhani, J. ve Yakhchali, M. (2020). Vertical transmission of *Neospora caninum* in Iranian dairy cattle. *Annals of Parasitology*, 66(4), 495–500. doi:10.17420/ap6604.290
- Gharekhani, J., Yakhchali, M., Heidari, R. (2022). Molecular detection and phylogenetic analysis of *Neospora caninum* in various hosts from Iran. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 80, 101737. doi:10.1016/j.cimid.2021.101737
- Goodswen, S.J., Kennedy, P.J., Ellis, J.T. (2013). A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. *Infection, Genetics and Evolution*, 13, 133–150. doi:10.1016/j.meegid.2012.08.012
- Gökçe, G., Mor, N., Kırmızıgül, A.H., Bozukluhan, K., Erkişiç, E.E. (2015). The First Report of Seropositivity for *Neospora caninum* in Sheep from Turkey. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 70(2), 40-44.
- Guedes, M.H.P., Guimarães, A.M., Rocha, C.M.B.M., Hirsch, C. (2008). Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas e fetos provenientes de municípios do sul de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17(4), 189-194. doi:10.1590/S1984-29612008000400004.
- Hernandez, J., Risco, C., Donovan, A. (2002). Risk of abortion associated with *Neospora caninum* during different lactations and evidence of congenital transmission in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(12), 1741–1746. doi:10.2460/javma.2002.221.1741
- Holler, LD. (2012). Ruminant Abortion Diagnostics. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 28(3), 407–418. doi:10.1016/j.cvfa.2012.07.007
- Hoving, E. (2009). Abortions in Dairy Cattle - I Common Causes of Abortions. *Virginia Cooperative Extension Publications*, 404-288.
- İça, A., Yıldırım, A., Düzlü, O., İnci, A. (2006). Kayseri yöresi sığırlarında *Neospora caninum* seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 30(2), 92-94.



- Innes, E.A., Bartley, P.M., Maley, S.W., Wright, S.E., Buxton, D. (2007). Comparative host-parasite relationships in ovine toxoplasmosis and bovine neosporosis and strategies for vaccination. *Vaccine*, 5495-5503, 2007. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.02.044.
- Innes, E.A., Wright, S.E., Maley, S., Rae, A., Schock, A., Kirvar, E., ... Buxton, D. (2001). Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *International Journal for Parasitology*, 31(13), 1523-1534. doi:10.1016/s0020-7519(01)00284-3
- Innes, E.A., Wright, S., Bartley, P., Maley, S., Macalodowie, C., Esteban-Redondo, I., Buxton, D. (2005). The host-parasite relationship in bovine neosporosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 108(1-2), 29-36. doi:10.1016/j.vetimm.2005.07.004
- İrehan, B., Sönmez, A., Atalay, M.M., Ekinçi, A.İ., Çelik, F., Durmuş, N., ... Şimşek, S. (2022). Investigation of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Tritrichomonas foetus* in abortions of cattle, sheep and goats in Turkey: Analysis by real-time PCR, conventional PCR and histopathological methods. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 89, 101867. doi:10.1016/j.cimid.2022.101867.
- Juyal, P.D., Bal, M.S., Singla, L.D. (2011). Economic impact, diagnostic investigations and management of protozoal abortions in farm animals. *All India SMVS' Dairy Business Directory* 11, 39-46.
- Kaltungo, B.Y. ve Musa, I.W. (2013). A Review of Some Protozoan Parasites Causing Infertility in Farm Animals. *Hindawi Publishing Corporation ISRN Tropical Medicine*, 3, 1-6. doi:10.1155/2013/782609
- Kamali, A., Seifi, H.A., Movassaghi, A.R., Razmi, G.R., Naseri, Z. (2014). Histopathological and molecular study of *Neospora caninum* infection in bovine aborted fetuses. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(12), 990-994. doi: 10.12980/APJTB.4.201414B378
- Karatepe, B. ve Karatepe, M. (2016). Seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in Nigde province, Turkey. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 71: 39-42.
- Kasap, S., Ertunc, S., Temizel, E.M., Şentürk, S. (2020). A study of *Neospora caninum* antibody seroprevalence in dairy cows in Turkey. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 71(1). doi:10.12681/jhvms.22950

- Kashiwazaki, Y., Pholpark, S., Charoenchai, A., Polsar, C., Teeverapanya, S., Pholpark, M. (2001). Postnatal neosporosis in dairy cattle in northeast Thailand. *Veterinary parasitology*, 94(3), 217-20. doi:10.1016/s0304-4017(00)00358-7.
- Kaya, S., Kurt, M., Mustafa, A., Cenk, S.B., Ali, T.G., Şinasi, U. (4-10 Eylül 2011). *Samsun yöresinde brucellosis yönünden negatif olan sığırlarda Neospora caninum seropozitifliği* [bildiri]. 17th National Parasitology Congress and Caucasian and Middle East Symposium on Parasitic Diseases, Kars, Turkey.
- Kaveh, A.A., Merat, E., Samani, S., Danandeh, R., Soltan Nezaad, S. (2017). Infectious Causes of Bovine Abortion in Qazvin Province, Iran. *Archives of Razi Institute*, 72(4), 225-230. doi:10.22092/ari.2017.113299
- Khaitza, M.L., Barigye, R., Dyer, N.W., Doetkott, D.M., Foster, J.R. (2006). Serologic and other diagnostic evidence of *Neospora caninum* presence in North Dakota beef herds. *The Bovine Practitioner*, 40, 51–56.
- Kılıç, H. (1991). Toxoplasmosis yönünden ELISA ile pozitif serumların Sabin-Feldman ve IFAT yöntemleriyle karşılaştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 15(3-4), 24-28.
- Köse, O., Adanır, R., Kocamüftüoğlu, M., Çetin, Y. (2021). Investigation of *Neospora caninum* Seroprevalence and Association with Reproductive Problems in Cows in Burdur Province of Turkey. *Iranian journal of parasitology*, 16(3), 386-393. doi:10.18502/ijpa.v16i3.7091.
- Kul, O., Kabakci, N., Yıldız, K., Öcal, N., Kalender, H., İlkme, N. A. (2009). *Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle: The first clinical neosporosis report in Turkey. *Veterinary Parasitology*, 159(1), 69–72. doi:10.1016/j.vetpar.2008.10.019
- Kul, O. (2012). Epidemiology and Pathogenesis of *Neospora caninum* Infection: Special Emphasis to Neosporosis Status of Turkey. *Animal Health, Production and Hygiene*, 1(2), 70-79.
- Kula, D. ve Gökpinar, S. (2021). Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in Cattle in Oğuzlar Region. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 45(2), 108-112. doi: 10.4274/tpd.galenos.2020.7075

- Lally, N.C., Jenkins, M.C., Dubey, J.P. (1996). Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an ELISA for the diagnosis of bovine neosporosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 1996; 3: 275-279.
- Limoncu, H. (2022). *İzmir yöresindeki ithal sığırlarda Neospora caninum enfeksiyonu'nun seroprevalansı*. Doktora Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Lindsay, D.S. ve Dubey, J.P. (2020). Neosporosis, Toxoplasmosis, and Sarcocystosis in Ruminants: An Update. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 36, 205-222. doi:10.1016/j.cvfa.2019.11.004
- Lobato, J., Silva, D.A.O., Mineo, T.W.P., Amaral, J.D.H.F., Segundo, G.R.S., Costa-Cruz, J.M., ... Mineo, J.R. (2006). Detection of immunoglobulin G antibodies to *N. caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. *Clinical and vaccine immunology*, 13, 84–89. doi:10.1128/CVI.13.1.84-89.2006.
- Macaldowie, C., Maley, S.W., Wright, S., Bartley, P., Esteban-Redondo, I., Buxton, D., Innes, E.A. (2004). Placental Pathology Associated with Fetal Death in Cattle Inoculated with *Neospora caninum* by Two Different Routes in Early Pregnancy. *Journal of Comparative Pathology*, 131(2-3), 142–156. doi:10.1016/j.jcpa.2004.02.005
- Macedo, C.A.B.de, Macedo, M.F.S.B.de, Miura, A.C., Taroda, A., Cardim, S.T., Innes, E.A., ... Garcia, J.L. (2017). Occurrence of abortions induced by *Neospora caninum* in dairy cattle from Santa Catarina, southern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 26(3), 292–298. doi:10.1590/s1984-29612017051
- Maley, S.W., Buxton, D., Rae, A.G., Wright, S.E., Schock, A., Bartley, P.M., ... Innes, E.A. (2003). The Pathogenesis of Neosporosis in Pregnant Cattle: Inoculation at Mid-gestation. *Journal of Comparative Pathology*, 129(2-3), 186–195. doi:10.1016/s0021-9975(03)00032-x
- McAllister, M.M., Björkman, C., Anderson-Sprecher, R., Rogers, D.G. (2000). Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217(6), 881–887. doi:10.2460/javma.2000.217.881

- Monney, T., Debache, K., Hemphill, A. (2011). Vaccines against a major cause of abortion in cattle, *Neospora caninum* infection. *Animals*, 1(3), 306-325. doi: 10.3390/ani1030306
- Monney, T. ve Hemphill, A. (2014). Vaccines against neosporosis: What can we learn from the past studies? *Experimental Parasitology*, 140, 52–70. doi:10.1016/j.exppara.2014.02.015
- Moore, D.P., Regidor-Cerrillo, J., Morrell, E., Poso, M.A., Cano, D.B., Leunda, M.R., ... Campero, C.M. (2008). The role of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in spontaneous bovine abortion in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 156(3-4), 163–167. doi:10.1016/j.vetpar.2008.06.020
- Mor, N. ve Akça, A. (2012). Kars Yöresinde Sığır ve Köpeklerde *Neospora caninum* Üzerine Epidemiyolojik Araştırmalar: Gruplararası Çalışma. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(1), A193-A199. doi:10.9775/kvfd.2012.6181
- Müller, N., Zimmermann, V., Hentrich, B., Gottstein, B. (1996). Diagnosis of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection by PCR and DNA hybridization immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(11), 2850-2. doi:10.1128/jcm.34.11.2850-2852.1996
- Nasir, A., Lanyon, S.R., Schares, G., Anderson, M.L., Reichel, M.P. (2012). Sero-prevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in South Australian beef and dairy cattle. *Veterinary parasitology*, 186(3-4), 480-5. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.11.032.
- Noori, M., Rasekh, M., Ganjali, M., Nourollahi Fard, S.R. (2019). Seroprevalence of *Neospora caninum* Infection and Associated Risk Factors in Cattle of Sistan Areas, Southeastern Iran in 2016. *Iranian Journal of Parasitology*. 14(2):340-346.
- Ortega-Mora, L., Fernández-García, A., Gómez-Bautista, M. (2006). Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives. *Acta Parasitologica*, 51(1), 1–14. doi:10.2478/s11686-006-0001-0
- Qian, W., Wang, H., Shan, D., Li, B., Liu, J., Liu, Q. (2015). Activity of several kinds of drugs against *Neospora caninum*. *Parasitology International*, 64(6), 597–602. doi:10.1016/j.parint.2015.08.002

- Qian, W., Wang, T., Yan, W., Zhang, M., Han, L., Xue, R., ... Lv, C. (2017). Seroprevalence and first multilocus microsatellite genotyping of *Neospora caninum* in dairy cattle in Henan, central China. *Veterinary Parasitology*, 244, 81–84. doi:10.1016/j.vetpar.2017.07.022
- Quinn, H.E., Ellis, J.T., Smith, N.C. (2002). *Neospora caninum* a cause of immune-mediated failure of pregnancy. *Trends in Parasitology*, 2002; 18: 391-394. DOI: 10.1016/s1471-4922(02)02324-3.
- Quintanilla-Gozalo, A., Pereira-Bueno, J., Seijas-Carballedo, A., Costas, E., Ortega-Mora, L.M. (2000). Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: relationship infection-abortion and gestational antibody fluctuations. *International Journal for Parasitology*, 30, 900-906.
- Öcal, N., Atmaca, H.T., Albay, M.K., 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. *Turkish journal of veterinary and animal sciences*, 38(2), 161-168. doi:10.3906/vet-1307-11
- Öncel, T. ve Bıyıkoğlu, G. (2003). Sakarya Yöresi Süt Sığırlarında *Neosporosis caninum*. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22 (1-2-3), 87-89.
- Özkaraca, M., İrehan, B., Parmaksız, A., Ekinci, A.İ., Çomaklı, S. (2016). Koyun ve Keçi Abortlarında *Neospora caninum* ve *Toxoplasma gondii*'nin Dupleks PCR, İmmunohistokimyasal ve İmmunofloresans Yöntemlerle Teşhisi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 11(2). doi:10.17094/avbd.01250
- Özkaraca, M., Irehan, B., Parmaksız, A., Ekinci, A. I., Çomaklı, S. (2017). Determination of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in aborted bovine fetuses by duplex PCR, immunohistochemistry and immunofluorescence methods. *Medycyna Weterynaryjna*, 73(6), 346. doi:10.21521/mw.5707
- Pereira, G.R., Vogel, F.S.F., Bohrer, R.C., da Nóbrega, J.E., Ilha, G.F., da Rosa, P.R.A., ... Gonçalves, P.B.D. (2014). *Neospora caninum* DNA detection by TaqMan real-time PCR assay in experimentally infected pregnant heifers. *Veterinary Parasitology*, 199(3-4), 129–135. doi:10.1016/j.vetpar.2013.10.018
- Pişkin, Ç. ve Ütük, A.E. (2009). Prevalence of *Neospora caninum* in cows with stillbirth and abortion. *Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 20, 23-26.

- Ragozo, A.M.A., Paula, V.S.O., Souza, S.L.P., Bergamaschi, D.P., Gennari, S.M. (2003). Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 12(1), 33-37.
- Razmi, G.R., Maleki, M., Farzaneh, N., Talebkhan Garoussi, M., Fallah, A.H. (2006). First report of *Neospora caninum*-associated bovine abortion in Mashhad area, Iran. *Parasitology Research*, 100(4), 755–757. doi:10.1007/s00436-006-0325-6
- Reichel, M. P. (2000) *Neospora caninum* infections in Australia and New Zealand. *Australian Veterinary Journal*, (2000); 78: 258-261. 5. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2000.tb11751.x>.
- Reitt, K., Hilbe, M., Voegtlin, A., Corboz, L., Haessig, M., Pospischil, A. (2007). Aetiology of Bovine Abortion in Switzerland from 1986 to 1995 - A Retrospective Study with Emphasis on Detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* by PCR. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 54(1), 15–22. doi:10.1111/j.1439-0442.2007.00913.x
- Sadrebazzaz, A., Habibi, G., Haddadzadeh, H., Ashrafi, J. (2007). Evaluation of bovine abortion associated with *Neospora caninum* by different diagnostic techniques in Mashhad, Iran. *Parasitology Research*, 100(6), 1257–1260. doi:10.1007/s00436-006-0417-3
- Salehi, B., Amouei, A., Dodangeh, S., Daryani, A., Sarvi S., Safari-Kharyeki, M.R., ... Hosseinijad, Z. (2021). Molecular Identification of *Neospora caninum* Infection in Aborted Fetuses of Sheep, Cattle, and Goats in Mazandaran Province, Northern Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 16(3), 483-489. doi:10.18502/ijpa.v16i3.7102.
- Schares, G., Conraths, F.J., Reichel, M.P. (1999). Bovine neosporosis: comparison of serological methods using outbreak sera from a dairy herd in New Zealand. *International Journal for Parasitology*, 29(10), 1659–1667. doi:10.1016/s0020-7519(99)00104-6
- Serrano-Martínez, M.E., Cisterna, C.A.B., Romero, R.C.E., Huacho, M.A.Q., Bermabé, A.M., Albornoz, L.A.L. (2019). Evaluation of abortions spontaneously induced by *Neospora caninum* and risk factors in dairy cattle from Lima, Peru. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*.28(2), 215-220. doi:10.1590/s1984-29612019026

- Sevgili, M., Altaş, M.G., Keskin, O. (2005). Şanlıurfa yöresi sığırlarında *Neospora caninum*'un seroprevalansı. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(1), 127-30.
- Sevgili, M., Çimtay, İ., Keskin, O. (2003). Şanlıurfa yöresindeki keçilerde *Neospora caninum* enfeksiyonunun seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 27, 249-251. doi:10.30607/kvj.1058247
- Shaapan, R.M. (2016). The common zoonotic protozoal diseases causing abortion. *Journal of Parasitic Diseases*, 40(4), 1116–1129. doi:10.1007/s12639-015-0661-5
- Silva, D.A.O., Lobato, J., Mineo, T.W.P., Mineo, J.R. (2007). Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in dogs: Optimization of cut off titers and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*, 143(3-4), 234–244. doi:10.1016/j.vetpar.2006.08.028
- Silva, R., ve Machado, G. (2016). Canine neosporosis: perspectives on pathogenesis and management. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 59. doi:10.2147/vmrr.s76969
- Sinnott, F.A., Monte, L.G., Collares, T F., Silveira, R.M., Borsuk, S. (2017). Review on the immunological and molecular diagnosis of neosporosis (years2011–2016). *Veterinary Parasitology*, 239, 19–25. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.04.008.
- Şenel, M. (2022). *Marmara Bölgesindeki ruminant atık fötüslerinde Toxoplasma gondii ve Neospora caninum'un moleküler, patolojik yöntemlerle araştırılması ve etkenlerin moleküler karakterizasyonu*. Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Şentürk, S., Temizel, E.M., Kasap, S. (2020). Bir Buzağıda Klinik Kongenital Neosporozis. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 44(2), 109-11. doi:10.4274/tpd.galenos.2020.6666
- Şenünver, A. ve Kılıçarslan, M.R. (2005). Abortus Sorunu. E. Alaçam (Ed.), *Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite içinde* (5. bs., ss. 131-136). Ankara: Medisan.
- Şimsek, S., Ütük, A.E., Köroğlu, E., Dumanlı, N., Rişvanlı, A. (2008). Serprevalance of *Neospora caninum* in repeat breeder dairy cows in Turkey. *Archiv fur Tierzucht*, 51(2), 143-148. doi:10.5194/aab-51-143-2008

- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology And Evolution*, 30(12), 2725-9. doi:10.1093/molbev/mst197.
- Thurmond, M.C., Hietala, S.K., (1997). Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 58, 1381–1385.
- Toolan, D. P. (2003). *Neospora caninum* abortion in cattle – a clinical perspective. *Irish Veterinary Journal*, 2003; 56: 404-410.
- Tulu, D., Deresa, B., Begna, F., Gojam, A. (2018). Review of common causes of abortion in dairy cattle in Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 10(1), 1-13. doi:10.5897/JVMAH2017.0639
- VanLeeuwen, J.A., Greenwood, S., Clark, F., Acorn, A., Markham, F., McCarron, J., O’Handley, R. (2011). Monensin use against *Neospora caninum* challenge in dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, 175(3-4), 372–376. doi:10.1016/j.vetpar.2010.10.016
- Villagra-Blanco, R., Barrantes-Granados, O., Montero-Caballero, D., Romero-Zúñiga, J.J., Dolz, G. (2019). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections and associated factors in sheep from Costa Rica. *Parasite Epidemiology and Control*, 4, e00085. doi:10.1016/j.parepi.2019.e00085
- Vural, G., Aksoy, E., Bozkir, M., Kuçukayan, U., Erturk, A. (2006). Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle herds in Central Anatolia, Turkey. *Veterinary Archives*, 76(4), 343-349.
- Weston, J.F., Heuer, C., Williamson, N.B. (2012). Efficacy of a *Neospora caninum* killed tachyzoite vaccine in preventing abortion and vertical transmission in dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, 103(2-3), 136–144. doi:10.1016/j.prevetmed.2011.08.010
- Williams, D.J.L., Guy, C.S., McGarry, J.W., Guy, F., Tasker, L., Smith, R.F., Trees, A.J. (2000). *Neospora caninum*-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. *Parasitology*, 121(4), 347-358. doi:10.1017/s0031182099006587



- Wouda, W., Moen A.R., Visser, I.J.R., Van Knapen 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. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 9(2), 180-185. doi:10.1177/104063879700900212
- Yıldız, K., Gökpinar, S., Sürsal, N. (2017). Kırşehir İli Çiçekdağı İlçesi'nde yetiştirilen süt ineklerinde *Neospora caninum*'un seroprevalansı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 41, 135-8. doi:10.5152/tpd.2017.5218
- Yıldız, K., Kul, O., Babur, C., Kılıc, S., Gazyagcı, A. N., Celebi, B., Gurcan, I. S. (2009). Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle ranches with high abortion rate: Special emphasis to serologic co-existence with *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* and *Listeria monocytogenes*. *Veterinary Parasitology*, 164(2-4), 306–310. doi:10.1016/j.vetpar.2009.06.004

# EKLER

## Ek 1. Etik Kurul Raporu



**T.C.**  
**TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI**  
**İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü**



**İZMİR/BORNOVA VETERİNER KONTROL ENSTİTÜSÜ**  
**DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU**  
**PROJE DEĞERLENDİRME RAPORU**

<b>Projenin Adı</b>	Ege Bölgesindeki Atık Sığır Fetüslerde Neospora caninum'un Moleküler Yöntemlerle Tespiti, Moleküler Karakterizasyonu ve Bölge Seroprevalansı'nın Belirlenmesi.	
<b>Proje Yürütücüsü</b>	Ömer Faruk GÖKCECİK	BVKEM Parazitoloji Bölümü
<b>Yardımcı Araştırmacılar</b>	Prof. Dr. Hasan EREN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
<b>Projenin yürütüleceği yer/Bölüm</b>	İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü	
<b>Projenin süresi</b>	1 Yıl	
<b>Kullanılacak Deney hayvanı türü ve sayısı</b>	Sığır	973 Adet
<b>Yapılacak İşlemin kısa tanımı</b>	Yapılacak çalışmada, İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü sorumluluk alanında bulunan Aydın, Denizli, İzmir, Kütahya, Manisa, Muğla, Uşak illerindeki büyükbaş hayvancılık işletmelerinde oluşan abort fetüsler ve kan serumları örneklemede kullanılacaktır. Serolojik çalışmada, Ege Bölgesi'nde bulunan her il ayrı ayrı epidemiyolojik ünite olarak belirlenmiştir. Bu kapsamda basit rastgele örnekleme yöntemi ile her ilden %95 güven seviyesi, %10 beklenen prevalans (+/- 5) hata payı baz alınarak 139 adet, Ege Bölgesinde ise toplam 973 adet serum örneğinin toplanması hesaplanmıştır. Moleküler çalışmada ise İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü'nün 2020 yılı öncesine ait verileri doğrultusunda 01.07.2021 – 01.07.2022 yılları arasında en az 100 adet atık fetüse ait beyin, kalp, karaciğer, böbrek ve dalak örneklerinin moleküler çalışma için kullanılması hedeflenmektedir. Çalışmanın materyalini hayvanlardan alınan kan serumları ve abort fetüslere ait doku örnekleri oluşturacaktır.	
<b>GÖRÜŞLER</b>		
Sunulan projede kullanılacak olan atık fütüslerle yapılacak çalışmalarda 15 Şubat 2014 tarih ve 28914 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan " Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" in 8. madde (k) bendinde yer alan hükümlere göre Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onayına gerek bulunmamaktadır. Serolojik olarak çalışılmak üzere, basit rastgele örnekleme yöntemi ile belirlenen sığırdan toplanacak kan serumu örnekleri için yapılacak saha çalışmaları Enstitü Etik Kurul Yönergesine UYGUN bulunmuştur.		
<b>KARAR</b> (UYGUN / DÜZELTİLMESİ GEREKİR / KOŞULLU OLARAK UYGUN / UYGUN DEĞİLDİR) <b>UYGUN</b>		

16.04.2021

Dr. Ayşen BEYAZIT  
Uzm. Veteriner Hekim  
(İdari İzinli)

Dr. M. Zeynep GÜNEŞ  
Veteriner Hekim

Dr. Deniz TURAN  
Veteriner Hekim

Z. Nerdet ERMAN  
Veteriner Hekim

Dr. N. İker İÇİL  
Veteriner Hekim

H. Galip ÖZDEMİR  
Sivil Üye

Banu BAYDAR ERDOĞAN  
Sivil Üye

**Adres: Erzene Mah. Ankara Cad. No:172-155 Bornova 35040 İZMİR**  
**Tel: +90 232 388 00 10 Faks: +90 232 388 50 52 E-posta: Bornova.vke @ tarim.gov.tr**  
**Web: http://vetkontrol.tarimgov.tr/bornova**

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“Ege Bölgesi’ndeki Atık Sığır Fetüslerinde *Neospora caninum*’un Moleküler Yöntemlerle Tespiti, Moleküler Karakterizasyonu Ve Bölge Seroprevalansının Belirlenmesi” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

.....  
Ömer Faruk GÖKCECİK  
... / ... / 2023

## ÖZ GEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : GÖKCECİK Ömer Faruk  
**Uyruk** : T.C.  
**Doğum yeri ve tarihi** : Elbistan / 30.07.1986  
**Telefon** : 0 532 760 76 98  
**E-posta** : [ofgokcecik@gmail.com](mailto:ofgokcecik@gmail.com)  
**Yabancı dil** : İngilizce

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	
Y. lisans	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi	11.06.2008
Lisans	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi	11.06.2008

## BURSLAR ve ÖDÜLLER

## İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Unvan
2008-2009	Kahramanmaraş/Cihan Et Kombinası	Veteriner Hekim
2009-2010	Kahramanmaraş/Tosbi Veteriner Kliniği	Veteriner Hekim
2010-2011	Gaziantep/Real Hipermarket	Veteriner Hekim
2011-2014	Balıkesir/Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müd.	Veteriner Hekim
2014-2018	Kahramanmaraş/Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müd.	Veteriner Hekim
2018-.....	İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü	Veteriner Hekim

## AKADEMİK YAYINLAR

### 1. MAKALELER

- Polat Dinçer, P.F., Gökceciik, Ö.F., Başa, A. (2022). Evaluation of Interleukin and Vitamin Levels in Sheep Infested with *Sarcoptes scabiei*. *Atatürk University Journal of Veterinary Sciences*, 17(1), 11-15. DOI: 10.54614/VetSciPract.2022.985825
- Gökceciik, Ö.F., Çilli, E., Yeşilöz, H. (2022). Ege Bölgesindeki Koyun Ve Keçi İşletmelerinde *Toksoplazma gondii* Seroprevalansının Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 36 (3): 165 – 168. DOI: 10.13140/RG.2.2.24446.05443

### 2. PROJELER

- Türkiye’de Vektör Kaynaklı Önemli Viral Hayvan Hastalıklarının (Mavi dil-BT, Epizootik Hemorajik Ateş-EHD, Üç Gün Hastalığı-BEF ve AKABANE) Teşhisi, Vektörlerin Tespiti ve Erken Uyarı Sisteminin Oluşturulması. Çizmeci Ş.G. (Yürütücü), Gökceciik Ö.F., Deniz A., Danyer E., Hacıoğlu S., Öncel T., ve ark.
- Ege Bölgesindeki Atık Sığır Fetüslerde *Neospora caninum*’un Moleküler Yöntemlerle Tespiti, Moleküler Karakterizasyonu ve Bölge Seroprevalansı’nın Belirlenmesi. Gökceciik Ö.F. (Yürütücü), Eren H.