

Şanlıurfa Yöresi Safkan Arap Kısraklarında *Neospora caninum* Antikorlarının Belirlenmesi

Murat SEVGİLİ¹ Tekin ŞAHİN² İbrahim ÇİMTAY² Hayrettin ÇETİN³ Oktay KESKİN⁴ Ahmet GÖKÇEN¹

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa / Türkiye

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa / Türkiye

³Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa / Türkiye

⁴Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa / Türkiye

ÖZET

Bu çalışmanın amacı Şanlıurfa'da kısraklarda *N. caninum* antikorlarını belirlemektir. 90 safkan Arap kısrağına ait serum örnekleri *Neospora caninum* antikorları yönünden CI-ELISA testi ile incelendi. 90 kısrağın 8 (% 8,8)'inde *N. caninum* antikorları bulundu. 15 yaşından büyük kısraklar, 10 yaşından küçük kısraklardan daha yüksek bir seropozitiflik oranına sahipti ($p<0,05$).

Anahtar kelimeler: *Neospora caninum*, Kısrağ, Seroloji, ELISA

Determination of Antibodies to *Neospora caninum* in Thoroughbred Mares from Sanliurfa

SUMMARY

The objective of the present study, were to determine antibodies to *Neospora caninum* in mares from Sanliurfa. Sera obtained from 90 thoroughbred arabian mares were examined for antibodies to *N. caninum* using CI-ELISA Test. Antibodies to *N. caninum* were found in 8 (8.8 %) of 90 mares. Mares > 15 years old had higher seropositivity rates than did mares < 10 years of age ($p<0.05$).

Key words: *Neospora caninum*, Mare, Serology, ELISA

GİRİŞ

Neospora caninum, morfolojik ve biyolojik bazı özellikler bakımından *Toxoplasma gondii* ile benzerlik gösteren *Apicomplexan* bir parazittir (1). Bu benzerlikten dolayı, 1988 yılına kadar *N. caninum*, *T. gondii* olarak yanlış teşhis edilmiştir (4,17). *Neospora* köpek ve atlarda nörolojik hastalığa bunun yanısıra sığır, koyun, keçi, geyik ve atlarda abortlara sebep olan ve konakçılarının dokularında kist meydana getiren bir protozondur. Atlarda abort, zayıf tay doğumu, ensefalitis, medulla spinaliste ve kaslarda yangı ve arka ayaklarda felç görülür (5,14,16).

Sarcocystis, *Neospora* ve *Toxoplasma* soyları çiftlik hayvanlarında encephalomyelitise sebep olabilmektedir (8-11,17). Amerika'da son zamanlarda atlarda Equine Protozoal Myeloencephalitis'e benzer başka bir nörolojik hastalık görülmektedir (8). Yapılan son çalışmalarda atlarda *Neospora* soyuna bağlı olarak *N. caninum* ve *N. hughesi* olmak üzere iki türün varlığından söz edilmektedir (9,18). Daft ve arkadaşları (3) ile Marsh ve arkadaşları (13), tarafından yapılan iki çalışmada encephalitis gözlenen atların dokularından *N. caninum* identifiye edilmiştir. *N. caninum* ile birlikte görülen myeloencephalitis vakasında Hamir ve arkadaşları (12), merkezi sinir sistemi (MSS) dokularında mikroskopik bazı lezyonları tanımlayabildiklerini ifade etmişlerdir. Atlarda neosporosisin klinik bulguları teşhis için yeterli değildir (4-7). Yapılan bazı serolojik çalışmalar (8-11,14,16,18) ile at populasyonundaki *N. caninum* prevalansı belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılan az sayıdaki çalışmalara rağmen, atlarda *N. caninum*'un prevalansı tam olarak bilinmemektedir. Türkiye'de atlarda *N. caninum*'un varlığı hakkında herhangi bir kayda rastlanmamıştır.

Yapılan bu çalışma ile Şanlıurfa yöresindeki safkan Arap kısraklarında *N. caninum* antikorlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmanın materyalini Şanlıurfa yöresinde rasgele seçilmiş 4 yaşından büyük 90 safkan Arap kısrağı oluşturdu. Enfeksiyonun yaş ile ilişkisi yönünden fikir elde etmek üzere hayvanlar <10 yaş, 10-15 yaş ve >15 yaş olmak üzere üç yaş grubuna ayrıldı. Bu amaçla atların Vena Jugularisinden vakumlu tüplerle 10 ml kan alındı. Alınan kanlara protokol numarası verildi. Laboratuvarında 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Çıkarılan serumlar kapaklı plastik tüplere konarak teste tabi tutuluncaya kadar derin dondurucuda saklandı.

Serumlarda *N. caninum* antikorlarını araştırmak amacıyla ticari competitive ELISA (CI-ELISA) kiti (Veterinary Medical and Development, Pullman, WA, USA) prosedürüne uygun bir şekilde kullanıldı. Test sonucunda playtler 620 nm dalga boyunda bir ELISA Mikroplayt okuyucusunda (Molecular Devices VERSAmax) okundu. Test sonucunda % inhibisyon değeri kit prosedüründe belirtilen şu formülle hesaplandı. % Inhibisyon = $100 - [(Örneğin\ Optical\ Yoğunluğu\ (O.D) \times 100) \div (Ortalama\ Negatif\ Kontrol\ O.D.)]$

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

Çalışmada *N. caninum* seroprevalansı ile yaş arasındaki ilişkiyi analiz etmek için Chi-squared testi kullanıldı. İstatistiksel analizler için Minitab bilgisayar paket programı kullanıldı (15).

BULGULAR

Test sonucu elde edilen bulgular tabloda verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi yapılan CI-ELISA testi sonuçlarına göre muayene edilen 90 safkan Arap kısraklarının 8 (%8,8)'inde *Neospora caninum* antikorları tespit edildi. 10 yaşın altındaki kısraklarda pozitiflik saptanmazken, 10-15 yaş grubunda 2, 15 yaştan büyük olanlarda 6 kısrakın pozitif olduğu tespit edildi. 10 yaştan küçük olanlar ile 15 yaştan büyük olanlar arasındaki seropozitiflik oranı istatistik açıdan önemli bulundu ($p<0,05$). Ayrıca pozitif sonuç veren 8 kısrakın üçünün abort yaptığı hayvan sahipleri tarafından ifade edilmiştir.

Tablo . Kısrak Serumlarında *N.caninum* antikorlarının Prevalansı

Yaş Grubu	Hayvan Sayısı	Seropozitif Hayvan Sayısı	Seropozitiflik Oranı (%)
< 10 yaş ^a	30	-	0
10-15 yaş ^{ab}	32	2	6,2
>15 yaş ^b	28	6	21,4
Toplam	90	8	8,8
p	0,05		

Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında istatistiksel bakımdan fark bulunmamıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Atlarda *N. caninum* enfeksiyonlarının klinik olarak teşhisinin yapılması oldukça güçtür (1,4,5,12). Atlarda klinik neosporosis sadece Amerika'da yapılan birkaç çalışma ile ortaya konmuş olmasına rağmen, diğer hayvan türlerinde dünyanın her tarafında neosporosis enfeksiyonları rapor edilmiştir (6-10). Hamir ve arkadaşları (12), yaptıkları bir çalışmada 20 yaşındaki bir atda, MSS dokularında immunohistokimyasal tetkikler sonucunda enfeksiyonu tespit etmişlerdir. Bu nedenle yapılan çalışmaların büyük bir bölümünde serolojik testler kullanılarak *N. caninum*'un prevalansı belirlenmeye çalışılmıştır.

Mc Dole ve arkadaşları (14), IFAT ile 160 at serumunun % 8'inde, Dubey ve arkadaşları (9), ise *Neospora caninum*-aglutinasyon Testi (NAT) ile Kuzey Amerika'da 296 at serumunun 69 (%23.3)'unda seropozitiflik tespit etmişlerdir. Yine Dubey ve arkadaşları (10), Arjantin'de Aglutinasyon testi ile 76 atın hiçbirinde *N. caninum* antikorlarını bulamadıklarını bildirmekteyiz. Cheadle ve arkadaşları (2), IFAT ile Alabama'da rutin At Enfeksiyöz Anemisi kontrolü için toplanan 536 at serumunun %11'inde seropozitiflik saptamışlardır. Pitel ve arkadaşları (16), IFAT ile Fransa'da 434 at serumu örneğinin % 23'ünde *N. caninum* antikorları tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise ELISA testi ile 90 kısrakın % 8,8'inde *N. caninum* antikorları yönünden seropozitiflik tespit edilmiştir. 10 yaşın altındaki hayvanlarda antikor tespit edilmezken, 10-15 yaş arası hayvanların ikisinde ve 15 yaştan büyük olanlarda ise 6 kısrakta *N. caninum* antikorları tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, hastalığın yaş ile ilişkili olabileceğini ve yaşın ilerlemesinin enfeksiyonun

görülme oranını artırabileceğini düşündürmektedir. *Toxoplasma gondii* ve *N. caninum* bazı ruminantlarda abortların en büyük nedeni olmakla beraber, atlarda bu parazit tarafından oluşturulan transplasental enfeksiyonlar hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. Subklinik olarak enfekte atlarda *Neospora* antikorlarının prevalansı az bilinmektedir. Çalışmada pozitif sonuç veren 8 kısraktan 3'ünün daha önce abort yaptığı ifade edilmiştir. Bu sebeple abort yapan kısrakların *N. caninum* yönünden de incelenmesinin hastalığın ve abortlar içindeki yerinin tespiti açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmada, Şanlıurfa yöresindeki safkan Arap kısraklarında *N.caninum* antikorlarının % 8,8 oranında bulunduğu tespit edilmiştir. Neosporosisin atlarda MSS'de hayati öneme sahip bozukluklar oluşturan ve abort yapan bir enfeksiyon olduğu düşünülürse, enfeksiyon hakkında daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1-Björkman C and Uggla A, (1999):** Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. Int. Parasitol. 29: 1497-1507
- 2-Cheadle MA, Lindsay DS, Rowe S, Dykstra CC, Williams MA, Spencer JA, Toivio-Kinnucan MA, Lenz SD, Newton JC, Rolsma MD, Blagburn BL, (1999):** Prevalence of *Neospora* species in horses from Alabama and Characterization of an isolate recovered from a naturally infected horse. Int. J. Parasitol. 29: 1537-1543.
- 3-Daft BM, Barr BC, Collins N, Sverlow K, (1996):** *Neospora* encephalomyelitis and polyradiculoneuritis in an aged mare with Cushing's disease. Equine. Vet. J. 28: 240-243.
- 4-Dubey JP, (1999):** Neosporosis-the first decade of research. Int. J. Parasitol. 29: 1485-1488.
- 5-Dubey JP, (1999):** Recent advances in *Neospora* and neosporosis. Vet. Parasitol. 84: 349-367.
- 6-Dubey JP, (2003):** Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J. Parasitol. 41: 1-16.
- 7-Dubey JP and Lindsay DS, (1996):** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Vet. Parasitol. 67: 1-59.
- 8-Dubey JP, Kerber CE, Granstrom DE, (1999):** Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses in Brazil. J. Am. Vet. Med. Assoc. 215: 970-972.
- 9-Dubey JP, Romand S, Thulliez P, Kwok OCH, Shen SK, and Gamble HR, (1999):** Prevalence of Antibodies to *Neospora caninum* in Horses in North America. J. Parasitol. 85: 968-969.
- 10-Dubey JP, Venturini MC, Venturini L, McKinney J, Pecoraro M, (1999):** Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. Vet. Parasitol. 86: 59-62.

11-Gupta GD, Lakritz J, Kim JH, Kim DY, Kim JK, Marsh AE, (2002): Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju island, South Korea. *Vet. Parasitol.* 106: 193-201.

12-Hamir AN, Tornquist SJ, Gerros TC, Topper MJ, Dubey JP, (1998): *Neospora caninum*-associated equine protozoal myeloencephalitis. *Vet. Parasitol.* 79: 269-274.

13-Marsh AE, Barr BC, Madigan J, Lakritz J, Nordhausen R, Conrad PA, (1996): Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 209: 1907-1913.

14-McDole MG and Gay JM, (2002): Seroprevalence of antibodies against *Neospora caninum*

in diagnostic equine serum samples and their possible association with fetal loss. *Vet. Parasitol.* 105: 257-260.

15-Minitab for Windows, 32 bit. Minitab Inc. 1995.

16-Pitel PH, Pronost S, Romand S, Thuilliez P, Fortier G, Ballet JJ, (2001): Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in France. *Equine. Vet.* 33: 205-207.

17-Reichel MP, (2000): *Neospora caninum* infections in Australia and New Zealand. *Australian Vet. J.* 78: 258-261.

18-Vardeleon D, Marsh AE, Thorne JG, Loch W, Young R, Johnson PJ, (2001): Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. *Vet. Parasitol.* 95: 273-282.