

Van ve yöresi koyunlarında *Babesiosis*' in ELISA ile teşhisi[♦]

Kamile Biçek Serdar Değer

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

Özet: Bu çalışma, Van ve yöresindeki koyunlarda akut ve latent seyirli *Babesia* enfeksiyonlarının mikroskopik ve serolojik olarak ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) testi ile teşhis edilmesi *Babesiosis*'in naklinden sorumlu kene türlerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen bir survey çalışmasıdır. Çalışma dönemi süresince toplanan 156 koyunun kan serumlarının serolojik incelemesi sonucunda Haziran ayında toplanan serumlarda %73.3 oranında *Babesia ovis* antikorları tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla Eylül (%55.5), Temmuz (%55.26), Ağustos (%50), Mayıs (%20) ve Ekim (%13.3) ayları takip etmiştir. Serolojik olarak muayene edilen 1 yaş üstündeki koyunlarda pozitiflik oranı %45.51 olarak belirlenirken 1 yaş altındaki kuzularda bu oran %54.5 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre koyunlarda *Babesiosis*' in teşhisinde klinik ve mikroskopik muayenelerin yanında serolojik yöntemlerin de mutlaka kullanılmasının latent enfeksiyonların tespiti açısından önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Bunun yanında serolojik testler seçilirken uyumluluk, özgüllük, maliyet ve zaman mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Van ve yöresinde koyun *Babesiosis*'inden sorumlu kene türlerinin büyük bir baskınlıkla *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus turanicus* ve *Hyalomma anatolicum excavatum* olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Koyun, *Babesia ovis*, ELISA

The diagnosis of *Babesiosis* in the region of Van and around on sheep by ELISA

Abstract: This study is aimed to diagnose *Babesia* infections having acute and latent period and to identify the tick species which are responsible for the transmission of *Babesiosis*. Serological examination of 156 sheep serum samples show that, 73.3% of the animals had antibodies to *Babesia ovis* in June. In turn of this September (55.5%), July (55.26), August (50%), May (20%) and October (13.3%) were followed. Serologically, while the positive rate was 45.51% at the examined sheep which were over a-year old, this rate was 54.5%, at the lambs below a-year old. *Babesia ovis* were seen most in June (73.3%), after examination of the same animals blood smears in turn of this, July (23.68%), May (20%), August (16.6%) were followed. In September and October *Babesia ovis* wasn't found. *Babesia ovis* were seen microscopically in only 25 (%16.02) blood smears out of 156 smears. According to present results to diagnose *Babesiosis* in sheep, besides clinic and microscopic methods; serological methods must be carried out for to diagnose especially latent infection because it is important in finding it. Apart from this, while choosing serological tests suitability, specificity, cost and time must be taken into consideration. In Van and its regions *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus turanicus* and *Hyalomma anatolicum excavatum* found to be the most responsible tick species in transmission of *Babesiosis* in sheep

Keywords: Sheep, *Babesia ovis*, ELISA.

GİRİŞ

Paraziter hastalıklar içinde ön sıralarda gelen *Babesiosis* patojenitesi çok yüksek olan ve koyunlarda *Babesia ovis* ile *Babesia motasi* türleri tarafından meydana getirilen protozoer bir kan hastalığıdır. Halk arasında ağrıma, sarılık zerik gibi isimlerle tanınan *Babesiosis*, özellikle bahar aylarında vektör kenelerin aktiviteye başlamasıyla beraber etkisini koyunlar

üzerinde gösterir ve hayvanlar arasında yüksek seviyede ölümlere sebep olur. *Babesiosis*'in teşhisi genellikle klinik semptomlara bakılarak ve perifer kandan hazırlanan sürme frotilerde etkenleri mikroskopta görerek yapılır. Bu teşhis yöntemi sadece mikroskopik ve klinik vakaları tespit edebildiği halde, latent ve kronik enfeksiyonlar gözden kaçmaktadır. Bu olumsuz faktör son yıllarda serolojik teşhis yöntemlerinin uygulamaya konulması ile birlikte kan

[♦] Aynı adlı doktora tezinin özetidir.

serumunda etkenlerin varlığının dolaylı yollardan tespit edilebilmesiyle ortadan kalkmıştır.

Koyunlarda bulunan *Babesia*' ların serolojik teşhisine yönelik sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Yeruham ve ark. (1), 294 koyunun kan serumunda ve kolostrumda *Babesia ovis* antikorlarını teşhis etmek için IFAT testini kullanmışlardır. Araştırmacılar muayene edilen serum ve kolostrumda test pozitiflik oranını sırasıyla %88.9 ve %67.5 olarak belirlemişlerdir. Yıllık parazitemi oranının ise %5.3 olarak gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Nierlich (2), Ankara, Kırşehir ve Erzurumdan gelen 114 koyuna ait kan serumunda IFA ve ELISA testleri ile sırasıyla %64 ve %61 oranında *Babesia ovis*' e karşı antikor tespit etmiştir.

Sayın ve ark. (3), Türkiye'nin farklı bölgelerinden topladıkları koyun kan serumlarında *Babesia ovis* antikorlarını tespit etmek için IFAT testinden faydalanmışlardır. Araştırmacılar Karadeniz bölgesinden toplanan 141 serum örneğinde %71.6'lık seropozitiflik tespit ederken bu koyunların kan frotilerinin mikroskopik incelenmesinde ise *Babesia* türlerinin %67 oranında yaygın olduğunu belirtmişlerdir.

Değer (4), Van ilinde koyunlarda *Babesia ovis*' in seroinsidensini belirlemek için IFAT testinden faydalanmış, serolojik olarak 6-12 aylık koyunlarda %64.7, 1-2 yaş grubundaki koyunlarda %55, 2-3 yaş grubundaki koyunlarda %60, 3-4 yaş grubundakilerde %65, 4 yaş ve üzerindeki koyunlarda ise %58.3 oranında antikor tespit etmiştir. Araştırmacı aynı hayvanların mikroskopik muayeneleri sonucunda %30.6 oranında *Babesia ovis* ile enfekte olduklarını belirtmiştir.

Özcan (5), A.Ü. Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Kliniğine getirilen ve hastalık belirtisi gösteren 16 koyunun 11'inde *Babesia ovis*' i mikroskopik olarak teşhis etmiştir.

Çakmak ve ark (6), Samsun yöresinde koyunlarda *Babesia ovis*' in serodiagnozu üzerine yaptıkları çalışmada 141 koyun serumunun 101'inde IFA testi ile pozitiflik tespit etmişlerdir. Araştırmacılar aynı koyunların kalın damla ve yayma frotilerinin mikroskopik muayenelerinde 95 koyunda (%67) eritrositler içinde *Babesia* etkenlerinin bulunduğunu belirtmişlerdir.

Babesiosis'in ELISA testi ile tanısı Türkiye'de ilk kez Düzgün ve arkadaşları (7) tarafından gerçekleştirilmiştir.

Düzgün ve arkadaşları (8) Türkiye' nin 18 değişik bölgesinden topladıkları 1446 koyunun kan serumu örneklerinde, 1 yaşından büyük koyunlarda % 60-80, 1 yaşından daha küçük olanlarda ise % 28-52 oranları arasında ELISA testi ile *babesiosis* e karşı pozitiflik tespit etmişlerdir.

Dumanlı ve arkadaşları (9), Elazığ yöresinde koyunlarda ELISA yöntemini kullanarak *Babesia ovis*' in teşhisine yönelik olarak yaptıkları çalışmada serum örneklerinin % 45' ini pozitif olarak tespit etmişlerdir.

Bu çalışma Van ve yöresinde koyunlarda *Babesia ovis*' in klinik ve mikroskopik yöntemlerle teşhisinin yanında ELISA (Enzyme- Linked- Immunosorbent- Assay) testi ile latent ve kronik enfeksiyonların teşhisi ve babesiosis'in prevalansını tespit etmek, yörede koyunlarda *babesiosis*' e yol açan sorumlu kene türlerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmayı yürütmek üzere çalışma yeri olarak; Van merkez, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner ve Ziraat Fakülteleri Koyunculuk üniteleri, Van iline bağlı Edremit, Muradiye, ilçeleri ve bu ile bağlı Gölkaşı, Çayırbaşı, Sakallar, Gündoğan, Alaköy, Canik köyleri pilot bölgeler olarak seçilmiştir. 1998 Mayıs ayından Ekim ayına kadar her ay düzenli olarak bu köylere gidilmiş ve 11' i kuzu olmak üzere 6 aylık ile 5 yaş arası toplam 156 akkaraman ırkı koyundan kan alınmıştır. Ayrıca kan alınan her koyunun kulak ve kuyruk uçlarından sürme kan frotileri yapılmıştır. Daha sonra bu koyunların her biri kene enfestasyonu yönünden muayene edilmişlerdir.

Frotiler ise mikroskopik olarak immersiyon objektifi ile muayene edilmişlerdir.

Çalışma süresince toplanan kan serumlarında Enzyme -Linked- Immunosorbent Assay (ELISA) testi ile *Babesia ovis*' e karşı antikorların bulunup bulunmadığı araştırılmıştır.

Testte kullanılan antijen, konjugat, pozitif ve negatif serumlar Lalahan Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü Parazitoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

BULGULAR

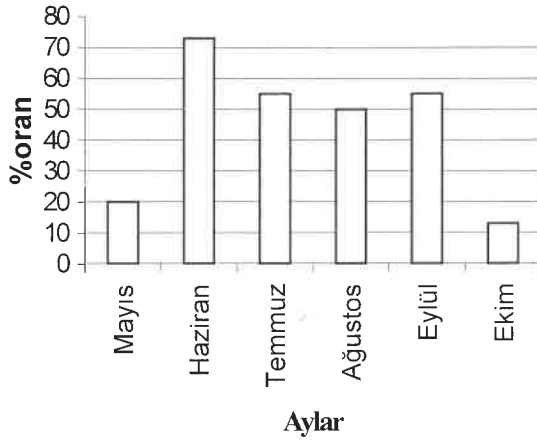
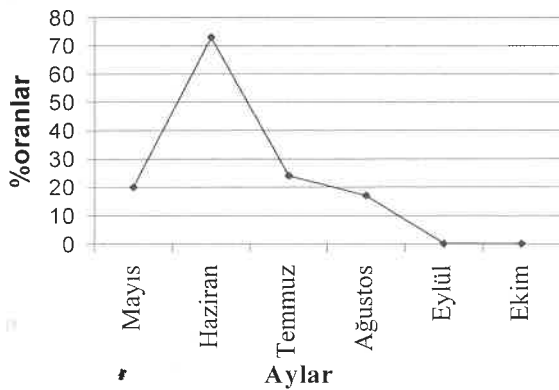
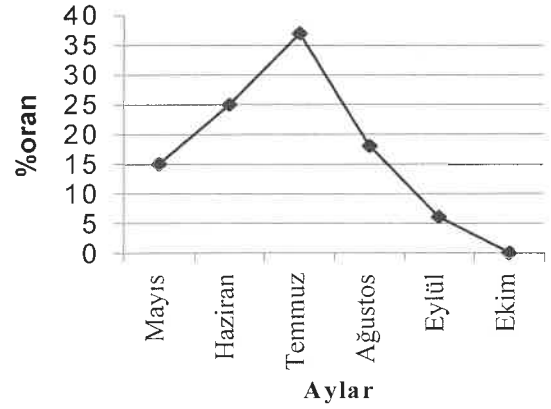
Mikroskopik ve serolojik bulgulara göre *Babesia ovis* enfeksiyonunun aylara göre dağılımı tablo 1 ve grafik 1'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Babesiosis' in teşhisi uzun yıllar mikroskopik muayenelerle yapılmışsa da daha sonraları özellikle latent enfeksiyonların tespitinde serolojik testlerden yararlanılmıştır. Günümüzde bu testlerden CF, ELISA, IFAT, GP, IHA en çok tercih edilen yöntemlerdendir (10-13).

Tablo1. Aylara göre mikroskopik ve serolojik olarak incelenen frotilerin ve serum örneklerinin *Babesia ovis* ile pozitiflik oranları

Aylar	Kan frotisi Sayısı	Serum Sayısı	Muayene sonuçları							
			Mikroskopik				Serolojik			
			Pozitif		Negatif		Pozitif		Negatif	
%	%	%	%	%	%	%	%			
Mayıs	10	10	2	20	8	80	2	20	8	80
Haziran	15	15	11	73.3	4	26.7	11	73.3	4	26.7
Temmuz	38	38	9	23.68	29	76.31	21	55.26	17	44.7
Ağustos	18	18	3	16.6	15	83.4	9	50	9	50
Eylül	45	45	0	0	45	100	25	55.5	20	44.5
Ekim	30	30	0	0	30	100	4	13.3	26	86.7
Toplam	156	156	25	16.02	131	83.97	72	46.15	84	53.84

**Grafik 1.** Serolojik bulgulara göre *Babesia ovis*' aylara göre dağılımı.**Grafik 2.** Mikroskopik bulgulara göre *Babesia ovis*'in aylara göre dağılımı.**Grafik 3.** Muayene edilen ve materyal olarak kullanılan koyunların üzerinden toplanan kenelerin [*Rhipicephalus bursa* (%82.35), *Rhipicephalus sanguineus* (%10.29), *Rhipicephalus turanicus* (%5.8), *Hyalomma anatolicum excavatum* (%1)] aylara göre dağılımı.

Bugüne kadar mikroskopik ve klinik bulgulara bakılarak Türkiye'de babesiosis'in varlığı çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir.

Göksu (14), Orta ve Doğu Anadolu'nun çeşitli bölgelerinden 3' ü keçi olmak üzere muayene ettiği 520 koyunun 9' unda (1.73) *Piroplasma ovis* (*Babesia motasi*), 29' unda (1'i keçi) *Babesia ovis* (%24.82), 38 koyunda (%7.30) *Piroplasma* ve *Babesia ovis*'i miks ve 2' sinde de (%0.38) *Babesia* ve *Anaplasma ovis*'i miks olarak bulmuştur. Kurtpınar (15), Etlik Veteriner Bakterioloji Enstitüsüne getirilen 52'si koyun 11'i keçi olmak üzere 63 vakada *Babesia ovis* tespit etmiştir. Özer ve ark (16), Malatya ve Güneydoğu Anadolu illerinde sağlam görünümlü 500 koyunun kan

frotillerinin muayenesinde %0.6 oranında latent seyirli Babesia ovis teşhis etmiştir. Taşçı (17), Van bölgesinde yaptığı çalışmada mikroskopik olarak %0.85 oranında Babesia türlerini teşhis etmiştir. Değer (4), aynı bölgede yaptığı çalışmada mikroskopik olarak %30.6 nispetinde Babesia ovis bulunduğunu belirtmiştir. Van ve yöresinde yapılan bu çalışmada ise 6 aylık dönemde koyunların sürme kan frotillerinde %16.02 oranında Babesia ovis tespit edilirken aynı frotillerde Babesia motasi' ye rastlanamamıştır.

Görüldüğü üzere sonuçlar arasında oldukça büyük farklar vardır. Bu tablo babesiosis'in klinik ve mikroskopik teşhisinde aynı bölgelerde bile olsa farklı sonuçlar ortaya koyabileceğini göstermektedir. Bu sonuç babesiosis'in klinik ve mikroskopik belirtilerden daha çok latent seyreden bir enfeksiyon olabileceğini akla getirmektedir.

Özkoç (18), koyunlarda Babesia ovis'in teşhisini IFA testi ile yapmış, kuzuları deneysel olarak Babesia ovis ile enfekte ettikten sonra kanda parazitlerin görüldüğü ilk 4 gün içinde kan serumunda 1:40 ve 1:80 titrelerde antikor tespit etmiştir. Araştırmacı enfeksiyondan 383-403 gün sonra kan serumlarında IFAT testi ile antikor tespit edememiştir.

Çakmak ve ark (6), Samsun yöresi koyunlarda Babesia ovis' in yaygınlığını saptamak için IFA testini kullanmış ve serolojik olarak muayene edilen 141 koyunun 101 tanesi Babesia ovis' e karşı (%67) pozitif reaksiyon vermiştir.

Nierlich (2), Ankara, Kırşehir ve Erzurum' dan toplanan 114 koyuna ait kan serumunu IFA ve ELISA testleri ile incelemiştir; IFA ile %64, ELISA ile %61 oranında Babesia ovis'e karşı antikor tespit etmiştir.

Düzgün ve ark (8), Türkiye'nin 18 değişik bölgesinden topladıkları koyun kan serumu örneklerinde 1 yaşından büyük koyunlarda %60-80, 1 yaşından küçük olanlarda ise %28-52 oranları arasında ELISA testi ile Babesia ovis' e karşı pozitiflik tespit etmişlerdir.

Dumanlı ve ark (9), Elazığ yöresinde koyunlarda Babesia ovis' in ELISA ile teşhisine yönelik çalışmada, 331 koyunun 149' ünün (%45) Babesia antikorlarını taşıdığını belirlemişlerdir. Pozitiflik oranı 1 yaşından küçük kuzularda %24.3, 1 yaşından büyük koyunlarda ise %47.6 olarak tespit etmişlerdir.

Sevinç (19), Konya yöresi koyunlarda ELISA testi ile Babesia ovis' in serolojik teşhisine yönelik yaptığı çalışmada incelediği serum örneklerinin % 42.14' ünü Babesia antikorları bakımından pozitif bulmuştur. Serolojik ve mikroskopik bulgulara göre Babesia ovis enfeksiyonunu en fazla 1-2 yaş grubundaki koyunlarda en az ise 6-12 aylık gruptaki koyunlarda tespit etmiştir.

Düzgün (20), Çanakkale yöresi koyunlarda Babesia antikorlarını tespit etmek için kan serumlarını ELISA testi ile incelemiştir. Muayene edilen

serumlardan TİGEM (Kumkale Tarım İletmesi)' de %35, Gökçalı' da %48.3, Akçapınar' da %56.6, Çıplak' ta %63.3 ve Taştepe köylerinde %38.3 oranlarında Babesia ovis'e karşı antikor tespit etmiştir.

Yukarı ve ark (21), Ankara yöresindeki koyunların kan serumlarını IFA ve ELISA testleri ile incelemişlerdir. Test edilen 509 koyun kan serumunun %79' unun ELISA, %76' sının IFA testi ile seropozitif olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar her iki test sonucunda elde edilen oranların kıyaslanması durumunda sonucun istatistiksel olarak birbirine yakın olduğunu ortaya koymuşlardır.

Van ve yöresinde koyunlarda Babesia ovis'in ELISA testi ile teşhisine yönelik yapılan bu çalışmada, muayene edilen 156 koyunun 72' si (%46.5) Babesia antikorları yönünden seropozitif olarak değerlendirilirken, bu oran 1 yaşın altında muayene edilen koyun kan serumlarında 11 kuzunun 6' sında (%54.5) ve 1 yaşın üstündeki 145 koyunun 66' sında (%45.5) antikor tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre, 1 yaş altındaki koyunlarda belirlenen bu enfeksiyon oranı aynı dönem içinde aktif olan vektör kenelerin küçük yaşta koyunlara da Babesia türlerini yüksek oranda naklettiğini göstermektedir. Aynı bölgede Değer (4)' in serolojik olarak yaptığı çalışmada mikroskopik olarak bulunduğu %30' luk ve serolojik olarak %60 olarak değerlendirdiği enfeksiyon oranı, yine bu bölgede Taşçı' nın (18) mikroskopik bulgularında belirttiği %0.85' lik enfeksiyon oranından da anlaşıldığı gibi babesiosisin epidemiyolojisi araştırılırken yalnızca mikroskopik bulguların yeterli olmayacağı bunun yanında serolojik teşhis yöntemlerinin de kullanılması gerektiğini göstermektedir. Serolojik yöntemler klinik ve mikroskopik belirti göstermeyen latent enfeksiyonların tespitinde çok önemlidir. Serolojik yöntemler içerisinde yer alan ve basit bir sistem üzerine kurulmuş olan ELISA'nın saha şartlarına uygun, ekonomik, güvenilir, yüksek duyarlılık ve çok sayıda serum örneğinin kısa sürede muayene edilmesi ve sonuçların gerek reaksiyon sonucu meydana gelen renk değişimi sayesinde göz ile, gerekse otomatik okuyucularla kolay bir şekilde değerlendirilmesi gibi diğer serolojik testlerden üstün avantajları bulunması dolayısıyla en çok tercih edilmesi gerekmektedir. Dolayısıyla her bölgede Babesia ovis' in yaygınlığının belirlenmesi için bu yöntemlerden faydalanılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Yeruham I., Hadani A., Galkar F., Rosen S: A study of an enzootic focus of sheep babesiosis (Babesia ovis, Babes, 1892), Vet Parasitol 60: 349-354, (1995)
2. Nierlich S: Ein ELISA zur Serodiagnose Babesia ovis-infektionen beim Schaf. Aus dem institüt für Parasitologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover, (1990)

3. Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, Yukarı BA., Eren H, Değer S, Nalbantoğlu S., Status of Tick born diseases in sheep and goats in Turkey, Ministero Della Sanita, Istituto superiore di Sanita department of Parasitology p1-11, (1996)
4. Değer MS: Van ilinde koyunlarda Babesiosisin seroepidemiolojisi üzerinde araştırmalar. A Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi Ankara, (1990)
5. Özcan HC: Ankara ve civarında Evcil Hayvanlarda Görülen Piroplasma Vakaları ve Tedavileri Üzerine Araştırmalar. A Ü Vet Fak Yay 143, (1961)
6. Çakmak A., Dinçer Ş, Karaer Z: Samsun yöresinde koyunlarda Babesia ovis' in serodiagnozu üzerine araştırmalar. A Ü Vet Fak Derg 38(1-2): 242-251, (1991).
7. Düzgün A, Alabay M, Çerçi H, Emre Z, Çakmak A: A serological survey using ELISA for Babesia bovis infection of cattle in Turkey. IAEA-TECDOC- 657: 175-177, (1992).
8. Düzgün A, Wright IG, Waltshuhl DJ, Gale KR, Goodger BV, Dargie JD, Alabay M, Cerci H: An ELISA for the diagnosis of Babesia ovis infection utilizing a synthetic, Babesia bovis derived antigen Vet Parasitol 39(3-4): 225-231, (1991).
9. Dumanlı N, Köroğlu E, Düzgün A, Argın M, Küçükkerden N: Elazığ yöresinde koyunlarda Babesia ovis' in seroprevalansı. Türk Vet Hay Derg. 8: 183-186, (1992).
10. Kreier JP, Baker JR: Parasitic Protozoa. Allen and Unwin, Inc., 8 Winchester Place, Winchester, mass. 01890, p187-195, USA, (1987).
11. Riek RF: Babesiosis. Infectious blood diseases of man and animals. Bd. 2. Academic Press, 219-268, New York and London, (1968)
12. Kreier JP: Parasitic Protozoa, Volume IV, Academic Press, New York, P.187-195, San Francisco London, (1977)
13. Todorovic RA: Serological diagnosis of Babesiosis: A review. Tropical Anim Hlth Prod 7: 1-14, (1975).
14. Göksu K: Yerli koyunlarımızda Babesidae ve Theileridae'lerin Epizootiolojik Durumlarıyla Biyolojilerine Dair Araştırmalar. A Ü Vet Fak Yayınları, No: 205, Ankara, (1967)
15. Kurtpınar H: Koyun ve Keçi Piroplazmozunu Babesane ve Acaprin' ile Mukayeseli tedavisi, Türk Vet Hek Dern Derg 23 (76-77): 453-456, (1953).
16. Özer E, Erdoğan Z, Köroğlu E: Malatya ve Güneydoğu Anadolu illerinde sığır, koyun ve keçilerde bulunan kan parazitleri ve yayılışları. Doğa- Tr .J. Vet Anim Sci 17: 209-215, (1993).
17. Taşçı S: Van bölgesinde sığır ve koyunlarda görülen kene türleri ile bunların taşıdığı kan parazitleri (protozoon) arasındaki ilişkiler. A Ü Vet Fak Derg 32: 53-63, (1989).
18. Özkoç Ü: Koyunlarda Babesia ovis (Babes,1892) enfeksiyonunun Endirek Floresan Antikor Tekniği ile Serolojik Teşhisi Üzerinde Araştırma. Pendik Vet. Mikrobiyoloji Enst Derg 2: 70-83, (1979).
19. Sevinç F: Konya yöresi koyunlarında Babesia ovis' in ELISA ile Teşhisi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, (1996).
20. Düzgün A: Çanakkale yöresinde koyunlarda Babesia ovis' in seroepidemiolojisi, Ankara Üniversitesi Sağ Bil Enst Doktora Tezi Ankara, (1997).
21. Yukarı BA, Çakmak A, Karaer Z, Düzgün A: Ankara Yöresinde Koyunlarda Babesia ovis'in IFA ve ELISA Yöntemleri ile Serodiagnozu Türk Vet Hek Derg 67: 42-45, (1996).

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Serdar Değer
Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Parazitoloji Anabilim Dalı
Van, TÜRKİYE

e-mail: serdardeger61@hotmail.com