

# Köpek periferel kan örneklerinde *Neospora caninum* ve *Toxoplasma gondii* takizoitlerinin TaqMan prob bazlı Real Time PCR ile araştırılması

Önder DÜZLÜ, Abdullah İNCİ, Alparslan YILDIRIM, Zuhul ÖNDER, Arif ÇİLOĞLU

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye.

**Özet:** Bu çalışma, Kayseri yöresinde klinik olarak normal görünümlü köpeklerden toplanmış toplam 400 adet EDTA'lı periferel tam kan örneğinde *Neospora caninum* ve *Toxoplasma gondii* takizoitlerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır. Kan örneklerinden genomik DNA izolasyonunu takiben, elde edilen genomik DNA'ların spektrofotometrik ölçümleri yapılmış ve Real Time PCR (qPCR) için uygun konsantrasyonlar hazırlanmıştır. *N. caninum* için NC5 ve *T. gondii* için RE gen bölgelerini hedef alan spesifik primer ve proplar kullanılarak örneklerin qPCR analizleri gerçekleştirilmiştir. qPCR sonuçlarına göre 400 örneğin 15'inde (%3,8) *N. caninum* pozitifliği tespit edilmiş olup hiçbir örnekte *T. gondii* pozitifliğine rastlanmamıştır. Sonuç olarak bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez Kayseri yöresinde köpeklerin perifer tam kan örneklerinde *N. caninum* ve *T. gondii* takizoitleri TaqMan Prob Bazlı Real Time PCR tekniği ile araştırılmış ve moleküler epidemiyolojik veriler elde edilmiştir.

Anahtar sözcükler: Köpek, *Neospora caninum*, Real Time PCR, takizoit, *Toxoplasma gondii*.

## Investigation of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* tachyzoites in peripheral blood samples of dogs by TaqMan probe based Real Time PCR

**Summary:** This study was carried out to investigate *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* tachyzoites in total of 400 whole peripheral blood samples with EDTA which were collected from the clinically healthy dogs in Kayseri region. Following the isolation of genomic DNA from the blood samples, spectrophotometric measurements of the obtained genomic DNAs were performed and appropriate concentrations were prepared for Real Time PCR (qPCR). qPCR analyses of the samples were conducted using the specific primers and probes that target the gene regions NC5 for *N. caninum* and RE for *T. gondii*. Out of 400 blood samples, 15 (3.8%) were found to be infected with *N. caninum* while no *T. gondii* positivity was determined in the examined samples. In conclusion, some molecular epidemiological data about *N. caninum* and *T. gondii* infections dogs in Kayseri region were firstly demonstrated in Turkey with this study.

Key words: Dog, *Neospora caninum*, Real Time PCR, tachyzoit, *Toxoplasma gondii*.

### Giriş

Neosporosis, zoonoz karakteri olmayan, köpeklerin ve sığırların dünya çapında yaygın önemli bir hastalığı iken toxoplasmosis zoonotik karakterli olup insanların, koyunların ve diğer sıcakkanlı hayvanların çok önemli bir protozoon enfeksiyonudur. Neosporosis etkeni *N. caninum*, heteroksen bir gelişmeye sahip olup konak dokularında kist oluşturur ve morfolojik olarak *T. gondii*'ye benzese de biyolojik yönden farklılık gösterir (4, 13). *N. caninum*'un yaşam döngüsünde takizoit, bradizoit ve sporozoit olmak üzere üç enfektif safha vardır. Hastalığın bulaşması oral (gıda kaynaklı) veya vertikal (transplasental) yolla olur. *N. caninum* ve *T. gondii*'nin morfolojik olarak birbirine çok benzer olmaları ve pratikte ayırt edilememeleri nedeniyle genetik ve antijenik farklılıkların ortaya konulmasını zorunlu hale getirmiştir. Bu konuda yapılmış bazı çalışmalarla genetik

ve antijenik yapıların farklılıkları gösterilmiştir (7, 8, 10, 22). *N. caninum* takizoitleri farklı tipte birçok hücreye girebilirler. Ancak enfeksiyonun erken döneminde özellikle mononükleer fagositik sistem hücrelerine yerleşirler. Takizoit formu, parazitofor vakuol içinde endodyogeni yoluyla hızlı bir biçimde ikiye bölünerek çoğalır. Enfekte hücrenin parçalanması ile takizoitler yeni hücrelere girerler. Bu sırada takizoitler, daha yavaş bölünme özelliğine sahip olan bradizoit formuna dönüşürler. Daha sonra parazitofor vakuolün duvarı kalınlaşmaya başlar ve sonunda inaktif bradizoitleri içeren bir kist duvarı şekillenir. Sinir ve kas dokularında bulunan bu kistler köpekler için enfektiftir. Bradizoitler bazı hallerde tekrar takizoit formuna dönüşebilirler ve konaklarında abortusa neden olurlar (7, 8, 10, 14, 22, 27).

Toxoplasmosis etkeni *T. gondii*'nin hayat siklusu fakültatif heteroksen olup takizoit, bradizoit ve sporozoit

olmak üzere 3 enfektif formu vardır (11). Toxoplasmosis'in ara konaklara bulaşması; doku kisti içeren hayvan etlerinin çiğ veya az pişmiş olarak tüketilmesiyle (karnivorizm), enfekte kedilerin dışkıyla ile atılan ve tabiatta sporlanan ookistlerin bulaştığı yiyecek ve içeceklerin ağız yoluyla alınmasıyla (gıda-kaynaklı), parazitemi döneminde tüm vücut salgıları, kan ve doku nakilleri ile ve gebelik döneminde şekillenen akut enfeksiyon durumunda fötusa plasenta aracılığı ile (vertikal) olmaktadır (9, 11, 12). Ara konakta bağırsak epitel hücrelerinin enfekte olmasından sonra, sporozoit veya bradizoitler, takizoitlere dönüşerek, hücre içinde endodyogeni yoluyla hızlı bir şekilde çoğalırlar. Enfekte hücre takizoitlerle tamamen dolduğu zaman, plazma membranı parçalanır ve takizoitler ekstrasellüler ortama yayılır. İmmunitenin gelişmesinden sonra takizoit formu konak dokularından temizlenir ve esasen parazitin uyku veya zararsız formu olarak adlandırılan bradizoitler yavaş bir biçimde çoğalmaya başlarlar. Kistler içinde yaşayan bradizoitler, konağın immün sisteminden kist duvarı sayesinde korunurlar ve pasif halde konak vücudunda yıllarca canlı kalabilirler (9, 11, 12).

Köpeklerde neosporosis ve toxoplasmosis gibi gıda kaynaklı enfeksiyonlar son yıllarda moleküler yöntemlerle de araştırılmıştır (15, 19, 20). Türkiye'de ise bugüne kadar köpeklerde bu iki enfeksiyonun moleküler yöntemlerle araştırılmasına dair veriye rastlanılmamıştır.

Bu çalışma, Türkiye'de ilk kez Kayseri yöresi köpeklerine ait periferik tam kan örneklerinde *N. caninum* ve *T. gondii* takizoitlerinin TaqMan Probe Bazlı Real

Time PCR tekniği ile araştırılması ve moleküler epidemiyolojik verilerin elde edilmesi amacıyla yapılmıştır.

### Materyal ve Metot

*Hayvan materyali (köpekler) ve kan örnekleri:* Çalışmanın materyalini, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon (ERÜBAP) Birimi tarafından desteklenen "Kayseri ve Yöresi Köpeklerinde Filaria Enfeksiyonlarının ELISA ve Membran Filtrasyon Asit Fosfataz Histo Kimyasal Boyama Yöntemleri ile Araştırılması" başlıklı ve VA-05-04 kodlu, TÜBİTAK tarafından desteklenen "Kayseri ve Civarında Köpeklerde Leishmaniosis'in Nested-PCR ile Moleküler Biyolojik Tanısı" başlıklı ve 104O302 kodlu araştırma projeleri kapsamında Kayseri'nin çeşitli bölgelerinde klinik olarak sağlıklı görümlü, farklı yaş, cinsiyet ve ırktaki sahipli/sokak köpeklerinden toplanmış ve -20°C'de muhafaza edilen toplam 400 adet EDTA'lı periferik tam kan örneği oluşturmuştur. Çalışma için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (12.01.2011 tarihli ve 11/07 sayılı karar) etik kurul onayı alınmıştır. Araştırmaya dahil edilen örneklerin örnek toplama merkezi, yaş, cinsiyet, ırk, ve sahipli/sokak köpeği olma durumuna göre dağılımları Tablo 1'de verilmiştir.

*DNA ekstraksiyonu:* Analize tabi tutulana kadar -20°C'de muhafaza edilen EDTA'lı köpek kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu, tam otomatik DNA/RNA ekstraksiyon sisteminde (Bioneer Exiprep™ 16) gerçekleştirilmiştir. Final konsantrasyonu 50µl olacak şekilde

Tablo 1. Kan örneklerinin toplama merkezi, yaş, cinsiyet, ırk, ve sahipli/sokak köpeği olma durumuna göre dağılımları.  
Table 1. The distribution of the blood samples according to localization, age, sex, race, and owned/stray dog.

Araştırma Merkezi	Köpek sayısı									TOPLAM
	Yaş (yıl)			Cinsiyet		İrk		Sahipli/Sokak		
	0,5-3	4-6	7-10	Erkek	Dişi	Küçük	Büyük	Sahipli	Sokak	
Kayseri Merkez	152	37	11	63	137	79	121	151	49	200
İncesu	31	12	6	20	29	22	27	26	23	49
Pınarbaşı	16	6	4	7	19	9	17	19	7	26
Felahiye	15	7	3	9	16	9	16	14	11	25
Talas	30	13	3	15	31	17	29	34	12	46
Tomarza	14	9	1	7	17	10	14	14	10	24
Yahyalı	12	16	2	8	22	10	20	19	11	30
TOPLAM	270	100	30	129	271	156	244	277	123	400

Tablo 2. Real Time PCR'da kullanılan tür spesifik primer ve işaretli probalar.  
Table 2. Species specific primers and probes for Real Time PCR.

	Primer	Prob	Kaynak
<i>N. caninum</i>	NC5-550 5'-GGGTGAACCGAGGGAGTTG-3'	NC5 P ROX-AGCGGTGA GA	15
	NC5-596: 5'-ACGTGAGGAATGACTAACCACAA-3'	GGTGGGATACGTGG- BHQ2	
<i>T. gondii</i>	ToxoRE_F 5'-CACAGAAGGGACAGAAGTCGAA-3'	ToxoRE P FAM-5'-CTACAGA	19
	ToxoRE_R 5'-CAGTCCTGATATCTCTCTCCAAGA-3'	CGCGATGCC-3'-BHQ1	

ayarlanmış ve elde edilen DNA miktarları Nanodrop spektrofotometre (ACT Gene ASP-3700) kullanılarak ölçülmüştür. Genomik DNA ekstraktları kullanılına kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

**Real Time PCR analizleri:** Elde edilen genomik DNA ekstraktlarında *N.caninum* ve *T. gondii*'nin eş zamanlı teşhisinde Real Time PCR yöntemi kullanılmıştır. Türlerine göre kullanılan primer ve problemlerin dizilimi ile problemlerin uçlarının işaretleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Kullanılan primer ve problemler, *N.caninum* için NC5 ve *T. gondii* için 529-bp repeat element (RE) gen bölgelerini hedef alan spesifik bölgeleri amplifiye etmektedir. Kontrol DNA'lar *Toxoplasma gondii* için Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'ndan temin edilmiş ve her qPCR reaksiyonunda kullanılmıştır. *N. caninum* için Path-*N.caninum*-genesig Real-Time PCR detection kit (PrimerDesign) ile örnekler analiz edilmiş, kit içerisinde çıkan pozitif kontrol analizlerde referans olarak kullanılmıştır.

Primer ve problemler qPCR master mixleri ile hazırlandıktan sonra örneklerden ekstrakte edilmiş genomik DNA'lar ilave edilmiş ve final master mix 20 $\mu\text{l}$  hacimde Real Time PCR (Stratagene, Mx-3005P) cihazında işlenmiştir. Sonuçlar MxPro™ ET qPCR (Stratagene, 401467) yazılımında değerlendirilmiştir. Real Time PCR amplifikasyonları için termal profil standart olarak  $95^{\circ}\text{C}$  2dk 1 siklus ve  $45^{\circ}\text{C}$  10sn,  $55-59^{\circ}\text{C}$  30s,  $72^{\circ}\text{C}$  20s olarak ayarlanmıştır. Real Time PCR analizi sonunda örneklerdeki pozitiflikler ve kantitatif değerler, amplifikasyon eğrileri ve Ct (dR) (eşik değer siklusu) verilerine göre hesaplanmış ve değerlendirilmiştir.

Real Time PCR analizi ile *N. caninum* pozitif saptanan izolatlar filogenetik analizler amacıyla ribozomal ITS-1 gen bölgesini çoğaltan; birinci PCR'da JS4 ve

CT2b, ikinci PCR'da ise CT1 ve CT2 primerleri ile Nested PCR analizlerine tabi tutulmuştur (24). Reaksiyon karışımı 25 $\mu\text{l}$  final konsantrasyonda hazırlanmıştır. PCR analizlerinde negatif kontrol olarak steril deiyonize su kullanılmıştır. Amplifikasyon sonunda elde edilen PCR ürünleri CLP Jel Dökümantasyon Sistemi ve Gene Snap from Syngene analiz programı (UVP INC Uplant, CA) ile görüntülenip analiz edilmiştir.

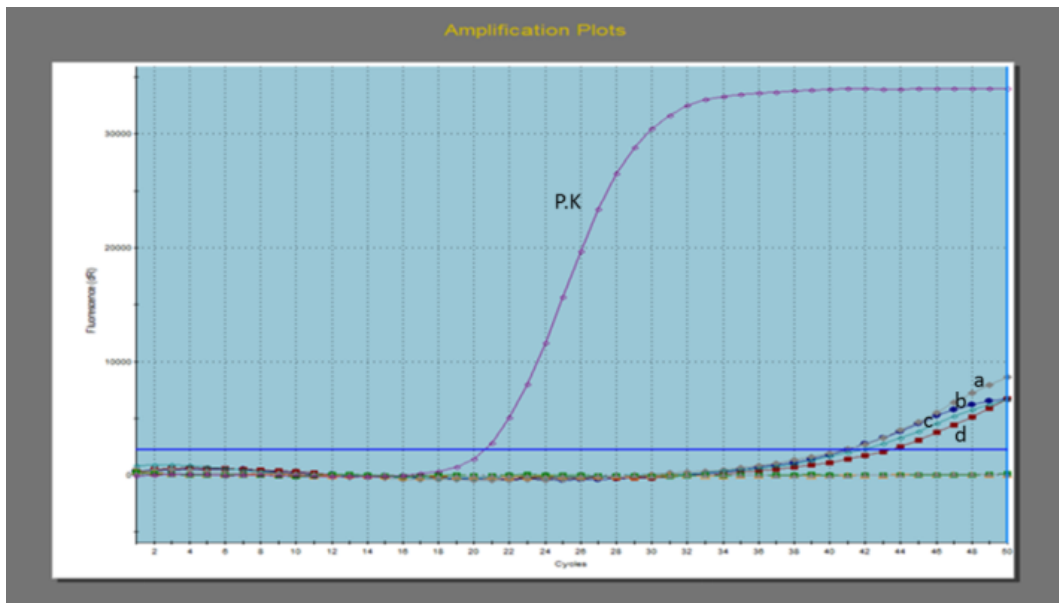
**İstatistiksel analiz:** İstatistik açıdan köpeklerde *N. caninum* ve *T. gondii* prevalansı ile yaş, cinsiyet, ırk ve sahipli/sokak köpeği olma gibi faktörlerinin ilişkisi, Fisher's Exact ve Pearson's Chi Square testleriyle araştırılmıştır.

## Bulgular

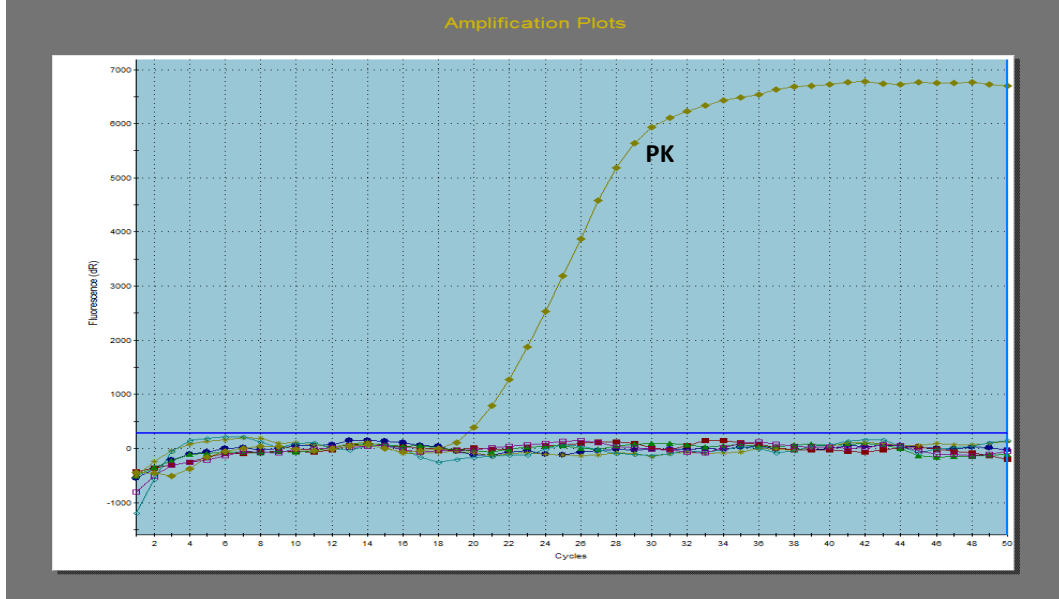
**Real Time PCR sonuçları:** Real Time PCR analizleriyle inceleme yapılan toplam 400 köpekten 15'i (%3,8) *N. caninum* (Şekil 1) yönünden pozitif bulunmuş olup örneklerin hiçbirinde *T. gondii*'ye (Şekil 2) rastlanmamıştır.

*Neospora caninum* pozitif örneklerde ortalama Ct (dR) değerleri  $38,4\pm 0,5$  olarak belirlenmiş olup bu değerler parazitemi düzeylerinin çok düşük olduğunu göstermiştir. Nitekim Real Time PCR ile pozitif saptanan *N. caninum* örneklerinden hiçbirinde Nested PCR ile jel üzerinde görüntü alınamamış, dolayısıyla da sekans analizleri gerçekleştirilememiştir.

**Pozitif belirlenen *N. caninum* enfeksiyonlarının moleküler prevalansında bazı faktörlerin analizi:** *N. caninum* yönünden pozitif belirlenen örneklerin parazit türü temel alınarak köpeklerin yaş, cinsiyet ırk ve sahipli/sokak köpeği olma özelliklerine göre dağılımları ve istatistiksel verileri Tablo 3'de verilmiştir.



Şekil 1. TaqMan Real Time PCR analizleri sonucu *N. caninum* pozitif saptanan bazı örneklerin amplifikasyon grafikleri; a,b,c,d: Pozitif örnekler, PK: Pozitif Kontrol  
Figure 1. The amplification graphics of some *N. caninum* positive samples in TaqMan Real Time PCR; a,b,c,d: Positive samples, PK: Positive control



Şekil 2. *T. gondii* için TaqMan Real Time PCR analiz sonuçları, PK: Pozitif Kontrol  
Figure 2. The results of TaqMan Real Time PCR analyses for *T. gondii*, PK: Positive control

Tablo 3. *N. caninum* prevalansının köpeklerin yaş, cinsiyet, ırk ve sahipli/sokak köpeği olma özellikleriyle ilişkisi.  
Table 3. The correlation of *N. caninum* prevalence with age, sex, race, and owned/stray of the dogs.

Faktör	İncelenen köpek sayısı	Enfekte köpek Sayısı	%	$\chi^2$	P
Yaş grupları (yıl)					
0,5-3	270	8	3,0		
4-6	100	5	5,0	1,603	0,449
7-10	30	2	6,7		
Cinsiyet					
Erkek	129	7	5,4		
Dişi	271	8	3,0	1,482*	0,262
İrk					
Küçük	156	7	4,5		
Büyük	244	8	3,3	0,385*	0,594
Sahipli/Sokak					
Sahipli	277	9	3,2		
Sokak	123	6	4,9	0,626*	0,408
Toplam	400	15	3,8		

$\chi^2$ : Pearson Chi-Square, Fisher  
\*: Fisher's Exact Test

Tablo 3'de de görüldüğü üzere *N. caninum* enfeksiyonlarının yayılışında yaş, cinsiyet, sahipli/sokak köpeği olma, büyük ırk/küçük ırk gibi faktörlere bağlı istatistiksel bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

### Tartışma ve Sonuç

Uluslararası turizm ve seyahat aktivitelerinin global ölçekte artması, insanların özellikle tatil amaçlı seyahatlerinde köpeklerini de beraberinde götürmek istemeleri, iklim ve ekolojik değişiklikler gibi bir çok faktör

neosporosis ve toxoplasmosis gibi enfeksiyonların kıtalar, ülkeler veya bölgeler arasında hızlı bir şekilde yayılmasına neden olabilmektedir. Öte yandan birbiriyle karıştırılan neosporosis ve toxoplasmosis sürü sağlığı için ciddi risk potansiyelidirler. Bu çerçevede dünyada yaygın görülen zoonotik karakteri bulunmayan neosporosis ile zoonotik karakterli toxoplasmosis'in köpeklerdeki teşhislerinde, kesin sonuca gidilebilen en ileri moleküler tekniklerin kullanılması ve bu hastalıkların moleküler epidemiyolojilerinin ve yarattıkları risk potansiyellerinin ortaya konması oldukça önemlidir (4-7).

Neosporosis etkeni *N. caninum*, ilk kez tespit edildikten (2) sonra, Meksika'da bir süt sığırcı sürüsünde abort salgınının sorumlusu olarak teşhis edilmiş (11) ve özellikle son yıllarda Türkiye (17, 21, 25, 29) dahil tüm dünyada sığırlarda yaşanan abort vakalarının birçoğunun primer sebebi olduğu rapor edilmiştir (1, 5). IFAT, ELISA, DAT, Western blot gibi serolojik teşhis yöntemleri *N. caninum*'un teşhisinde yaygın kullanılan yöntemler olarak kabul edilmiştir (7). Ancak serolojik tabanlı teknikler indirekt teşhis yöntemleri olup bu yöntemlerle erken evrede veya kist oluşumunun şekillendiği kronik enfeksiyonlarda yalancı negatiflikler ortaya çıktığından hastalıklar tespit edilememektedir. Bu açıdan immunohistokimya, hayvan inokulasyonları ve moleküler tanı teknikleri gibi direkt tanı yöntemlerinin daha kullanışlı olduğu ve moleküler tanı yöntemlerinin diğer direkt tanı tekniklerinden daha spesifik olduğu iddia edilmiştir (7). *N. caninum*'un moleküler teşhis ve karakterizasyonunda yüksek orandaki korunmuşluk özelliğinden dolayı Nc5 gen bölgesi son yıllarda tercih edilen ve yaygın olarak kullanılan gen bölgelerinin başında gelmektedir (16).

Bu çalışmada klinik olarak normal görünümlü köpeklerden alınan periferik tam kan örnekleri, Nc5 gen bölgesini hedef alan primerler ve TaqMan probu (15) ile *N. caninum* yönünden analiz edilmişlerdir. İncelenen 400 köpek kan örneğinin 15'inde (%3,8) qPCR analizleri ile *N. caninum* pozitifliği saptanmıştır. Pozitif örneklerde Ct (dR) değerlerine (ort. 38,4±0,5) göre paraziteminin oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir. Nitekim konvansiyonel PCR ile bu örneklerde jel üzerinde görüntü alınamamış ve dolayısıyla sekans analizleri yapılamamıştır. Ancak *N. caninum*'un periferik kanda moleküler olarak saptanması, akut bir enfeksiyonu gösterebileceği gibi immün sistemin baskılanması sonucu kist içerisindeki parazitlerin reaktif olabildiğini de düşündürmüştür. Nitekim benzer şekilde King ve ark. (20) da, Avustralya'da köpeklerde yaptıkları çalışmada 41 köpeğin periferik kan örneklerinden üçünde konvansiyonel PCR ile *N. caninum* pozitifliğini tespit etmişlerdir.

*Neospora caninum* enfeksiyonlarının yayılışında yaş, cinsiyet, sahipli/sokak köpeği olma, büyük ırk/küçük ırk gibi bazı epidemiyolojik faktörlerin analizlerinde istatistiksel açıdan herhangi bir farklılık saptanmamıştır (p>0,05). Nitekim bu epidemiyolojik veri sonuçlarının daha önce Türkiye (3, 29) ve Dünya'da (23, 28) yapılmış bazı serolojik çalışmalarda epidemiyolojik sonuçlarla uyum gösterdiği belirlenmiştir.

Bu çalışmada *N. caninum* pozitifliği için geçerli bu durum, benzer şekilde *T. gondii* için de hipotez edilmiştir. Bu kapsamda köpek kan örnekleri, *T. gondii* spesifik primerler ve TaqMan probu ile qPCR'da analiz edilmişlerdir. Ancak *T. gondii* pozitifliği belirlenemmiştir. Bu durum, incelenen köpeklerin *T. gondii* ile enfekte olmadıklarını veya köpekler enfekte olsalar bile kan dolaşımında parazitin takizoitlerinin bulunmadığını düşündürmüştür. Nitekim Çin'de yapılan moleküler tabanlı bir çalışmada (26) *T. gondii* 110 sokak köpeğinin kan örneklerinde, Nested PCR ile araştırılmış ve hiçbir pozitifliğe rastlanmadığı bildirilmiştir. *T. gondii* ile ilgili olarak mevcut çalışmamızda elde edilen sonucun Çin'de yapılan bu çalışmayla paralel olduğu görülmüştür.

Bu çalışmadan elde edilen moleküler epidemiyolojik veriler Kayseri yöresinde köpeklerin çiftlik hayvanları üzerinde oluşturdukları risk potansiyelleri bakımından *N. caninum*'un *T. gondii*'den daha önde geldiğini göstermiştir. Ayrıca bu moleküler epidemiyolojik sonuç, yörede sığırlarda neosporosis yaygınlığı üzerine daha önce yapılmış serolojik çalışmada (17), abort yapan sığırlarda tespit edilen %33,3'lük *N. caninum* seropozitifliğini doğrulamıştır. Bu moleküler epidemiyolojik veriler ışığında ve son yıllarda dünyada kabul gören "sürü sağlığı" (18) konsepti çerçevesinde, her iki hastalığın karşılaştırılması durumunda, neosporosis'in toxoplasmosis'e göre sığırlar için primer risk faktörü olabileceği, sığır yetiştiriciliğinde görülen abort olgularının öncelikli sorumluları arasında görülebileceği ve dolayısıyla ortaya

çıkan ekonomik kayıplardan da öncelikli sorumlu tutulabileceği ileri sürülebilir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen moleküler epidemiyolojik veriler, sağlıklı bir sığırcılık işletmesinde sürü sağlığı açısından köpeklerin neosporosis için önemli olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak kantitatif Real Time PCR tekniği ile yapılan bu çalışmayla, Türkiye'de ilk kez Kayseri yöresinde köpek periferik tam kan örneklerinde *N. caninum* ve *T. gondii* takizoitleri araştırılmış ve moleküler epidemiyolojik veriler elde edilmiştir. Çalışmayla Türkiye'de ilk kez köpeklerde *N. caninum* takizoitleri moleküler olarak saptanmıştır.

### Teşekkür

Araştırmacılar, bu çalışmaya TSA-11-3439 kod numaralı proje ile maddi destek sağlayan ERÜBAP Birimi'ne ve çalışmada kullanılan referans izolatların temini için Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'na teşekkür ederler. Bu çalışma 18. Ulusal Parazitoloji Kongresi'nde (29 Eylül-5 Ekim 2013, Denizli) sunulmuştur.

### Kaynaklar

1. Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA (2000): *Neosporosis in cattle*. Anim Reprod Sci, **60**, 417-431.
2. Bjerkas I, Mohn SF, Presthus J (1984): *Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs*. Z Parasitenkd, **70**, 271-274.
3. Coşkun ŞZ, Aydın L, Bauer C (2000): *Seroprevalence of Neospora caninum infection in domestic dogs in Turkey*. Vet Rec, **146**, 649.
4. Dubey JP, Schares G (2011): *Neosporosis in animals-the last five years*. Vet Parasitol, **180**, 90-108.
5. Dubey JP (2009): *Toxoplasmosis of Animals and Humans*, Second Edition, CRC Press.
6. Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM (2007): *Epidemiology and control of neosporosis and Neospora caninum*. Clin Microbiol Rev, **20**, 323-367.
7. Dubey JP, Schares G (2006): *Diagnosis of bovine neosporosis*. Vet Parasitol, **140**, 1-34.
8. Dubey JP, Buxton D, Wouday W (2006): *Pathogenesis of Bovine Neosporosis*. J Comp Path, **134**, 267-289.
9. Dubey JP (1998): *Advances in the life cycle of Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol, **28**, 1019-1024.
10. Dubey JP, Lindsay DS (1996): *A review of Neospora caninum and neosporosis*. Vet Parasitol, **67**, 1-59.
11. Dubey JP, Beattie CP (1988): *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press, Inc Boca Raton, Florida.
12. Dumanlı N, Aktaş M, Altay K (2013): *Toxoplasmosis, Köpek ve kedilerde Görülen Parazit Hastalıkları*, 1095-1099. In: Özcel MA, İnci A, Köroğlu E, Karaer Z, Eren H, Yukarı BA, Dumanlı N, Aydın L, Yıldırım A, Eds., Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları, Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir.
13. Dumanlı N, Aktaş M, Altay K (2013): *Neosporosis, Köpek ve Kedilerde Görülen Parazit Hastalıkları*, 1100-1101. In: Özcel MA, İnci A, Köroğlu E, Karaer Z, Eren H, Yukarı BA, Dumanlı N, Aydın L, Yıldırım A, Eds., Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları, Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir.

14. **Georgieva DA, Prelezov PA, Koinarski VTS** (2006): *Neospora caninum* and Neosporosis in animals - a review. *Bulg J Vet Med*, **9**, 1-26.
15. **Ghalmi F, China B, Kaidi R, Daube G, Losson B** (2008): *Detection of Neospora caninum* in dog organs using real time PCR systems. *Vet Parasitol*, **155**, 161-167.
16. **Gondim LF, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE** (2004): *Coyotes (Canis latrans)* are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol*, **34**, 159-161.
17. **İça A, Yıldırım A, Düzlü Ö, İnci A** (2006): *Kayseri yöresinde Neospora caninum'un seroprevalansı*. *Türk Parazitoloj Derg*, **30**, 92-94.
18. **İnci A, Albasan H** (2013): *Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları, Sığırlarda Görülen Parazit Hastalıkları-Giriş*, 47-49. In: Özcel MA, İnci A, Köroğlu E, Karaer Z, Eren H, Yukarı BA, Dumanlı N, Aydın L, Yıldırım A, Eds., *Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları, Türkiye Parazitoloji Derneği*, İzmir.
19. **Kasper DC, Sadeghi K, Prusa AR, Reischer GH, Kratochwill K, Förster-Waldl E, Gerstl N, Hayde M, Pollak A, Herkner KR** (2009): *Quantitative real-time polymerase chain reaction for the accurate detection of Toxoplasma gondii in amniotic fluid*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, **63**, 10-15.
20. **King JS, Brown GK, Jenkins DJ, Ellis JT, Fleming PJ, Windsor PA, Slapeta J** (2012): *Oocysts and high seroprevalence of Neospora caninum in dogs living in remote Aboriginal communities and wild dogs in Australia*. *Vet Parasitol*, **187**, 85-92.
21. **Kul O, Kabakci N, Yıldız K, Ocal N, Kalender H, İlkme NA** (2009): *Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle: the first clinical neosporosis report in Turkey. *Vet Parasitol*, **159**, 69-72.
22. **Marsh AE, Barr BC, Sverlow K, Ho M, Dubey JP, Conrad PA** (1995): *Sequence analysis and comparison of ribosomal DNA from bovine Neospora to similar coccidial parasites*. *J Parasitol*, **81**, 530-535.
23. **Romanelli PR, Freire RL, Vidotto O, Marana ER, Ogawa L, De Paula VS, Garcia JL, Navarro IT** (2007): *Prevalence of Neospora caninum and Toxoplasma gondii in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil*. *Res Vet Sci*, **82**, 202-207.
24. **Silva MS, Uzêda RS, Costa KS, Santos SL, Macedo AC, Abe-Sandes K, Gondim LF** (2009): *Detection of Hammondia heydorni and related coccidia (Neospora caninum and Toxoplasma gondii) in goats slaughtered in Bahia, Brazil*. *Vet Parasitol*, **162**, 156-159.
25. **Simsek S, Ütük AE, Babür C, Köroğlu E** (2006): *Seroprevalence of Toxoplasma gondii in dogs in the province of Kocaeli*. *T Parazitoloj Derg*, **30**, 171-174.
26. **Wang Q, Jiang W, Chen YJ, Jing ZY** (2011): *Prevalence of Toxoplasma gondii antibodies and DNA in dogs in Shanghai, China*. *J Parasitol*, **97**, 367-369.
27. **Williams DJL, Trees AJ** (2006): *Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetopathy in Neospora caninum-infected cattle*. *Parasite Immunol*, **28**, 61-67.
28. **Yagoob G** (2011): *Seroprevalence of Neospora caninum in stray dogs*. *Am J Anim Vet Scies*, **6**, 100-104.
29. **Yıldız K, Kul O, Babür C, Kılıç S, Gazıyagcı AN, Çelebi B, Gürcan IS** (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*. *Vet Parasitol*, **164**, 306-310.

Geliş tarihi: 20.01.2014 / Kabul tarihi: 10.04.2014

**Yazışma adresi:**

Yrd. Doç. Dr. Önder Düzlü  
Erciyes Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Parazitoloji Anabilim Dalı  
Melikgazi, Kayseri  
e-mail: onderduzlu@erciyes.edu.tr