



Osmaniye yöresindeki köpeklerde Anti-*Neospora caninum* antikorlarının araştırılması

Armağan Erdem Ütük^{1*}, Bünyamin Akın²

¹ Çukurova Üniversitesi, Ceyhan Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye
² Osmaniye Belediyesi, Veteriner İşleri Müdürlüğü, Osmaniye, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 21.09.2020, Kabul tarihi / Accepted: 16.10.2020

Özet: *Neospora caninum* Apicomplexa şubesinde yer alan parazitik bir protozondur. Son konakları canidae ailesinde bulunan carnivorlar, ara konakları ise sığır başta olmak üzere, koyun, keçi, manda ve at gibi çiftlik hayvanlarıdır. Hastalık köpeklerde nöromusküler bozukluklar, multifokal sistemik yayılım ve dermal semptomlara, sığırlarda ise abort, ölü doğum, fetal ölümler ve sonuçta ciddi ekonomik kayıplara neden olur. Bu çalışmanın amacı Osmaniye yöresindeki köpeklerin *N.caninum*'a maruziyet durumlarını belirlemektir. Bu amaçla Osmaniye'nin farklı ilçelerinden 71'i erkek ve 34'ü dişi olmak üzere toplam 105 köpekten kan örnekleri alınarak *N.caninum* antikorlarına karşı Enzyme-linked immunosorbent assay (c-ELISA) yöntemi ile test edildi. Etkenin ortalama seroprevalansı %35,23 (37/105) olarak belirlendi. Çalışmada *N.caninum* seroprevalansı ile ırk, cinsiyet ve yaş arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p>0.05$). Bu çalışma ile Osmaniye yöresindeki köpeklerin etkene maruziyet durumu ilk kez ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: c-ELISA, Köpek, *Neospora caninum*, Osmaniye.

Investigation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs in Osmaniye province

Abstract: *Neospora caninum* is a parasitic protozoon in the phylum Apicomplexa. The definitive hosts of the agent are carnivores in the family canidae and intermediate hosts are mainly cattle and farm animals such as sheep, goats, buffalo and horses. The disease causes neuromuscular disorders, multifocal systemic spread, and dermal symptoms in dogs, while in cattle, abortion, stillbirth, fetal deaths, and consequently serious economic losses. The purpose of this study was to determine the exposure status of the dogs to *N.caninum* in Osmaniye region. For this, blood samples were taken from 105 dogs (71 males and 34 females) from different districts of Osmaniye, and tested with c-ELISA method against *N.caninum* antibodies. The average seroprevalence of the agent was determined as 35.23% (37/105). As a result of statistical analysis, it was determined that the relationship between *N.caninum* seroprevalence and race, gender and age was insignificant ($p>0.05$). With this study, the exposure status of dogs to the *N.caninum* was revealed for the first time in Osmaniye region.

Keywords: c-ELISA, Dog, *Neospora caninum*, Osmaniye.

Giriş

Neospora caninum, Apicomplexa şubesinde yer alan, zorunlu hücre içi parazitik bir protozondur. Parazitin doğada bilinen son konağı canidae'ler, ara konakları ise çiftlik hayvanlarıdır ayrıca etken birçok yabani memeli ve kanatlının çeşitli organ ve dokularında tespit edilmiştir (Dubey ve ark., 2017; Lindsay ve Dubey, 2020).

Hastalığın domestik siklustaki en önemli son konağı köpek ve ara konakları ise sığırlardır. Bu iki canlı arasındaki döngü ciddi klinik semptomlardan ve ekonomik kayıplardan sorumludur (Reichel ve ark., 2003; Utuk ve Eşki, 2019).

Köpeklerde hastalık genellikle asemptomatik seyrederek ancak çok genç, çok yaşlı ve bağışıklık sistemi baskılanmış köpeklerde hastalık farklı düzeylerde ortaya çıkabilir. Kongenital enfekte köpek

yavrularında genellikle doğumdan sonraki ilk birkaç haftalık dönemde arka bacaklarda ilerleyen parezis, paraliz, kaslarda aşırı gerginlik ve atrofi şekillenir. Bu tip hastalarda tipik olarak polyradiculoneuritis, polymyositis ve meningoencephalomyelitis görülür (Dumanlı ve Aktaş, 2015; Dubey ve ark., 2017).

Erişkin köpeklerde encephalitis, meningoencephalomyelitis ve myositis görülür. Parezis en yaygın nörolojik bulgudur ayrıca kasılma, anormal davranış, vestibuler disfonksiyon gibi semptomlar ortaya çıkar. Şekillenen myositis, tutuk yürüyüş, zayıflık, ağrı ve kas atrofilerine neden olur. Hastalığın seyri boyunca akciğer, karaciğer, göz ve kalp gibi organlar da tutulabilir. Bazı köpeklerde multifokal sistemik yayılma ve poligranülomatoz dermatitis tablosu da görülebilir (Dumanlı ve Aktaş, 2015; Dubey ve ark., 2017).

Yazışma adresi / Correspondence: Armağan Erdem Ütük, Çukurova Üniversitesi, Ceyhan Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye E-posta: autuk@cu.edu.tr

ORCID IDs of the authors: ¹0000-0002-7986-3583 • ²0000-0003-1074-652X

Siğirilerde en önemli semptom genellikle gebeliğin 5-6. aylarında görülen aborttur. Siğirilerde abort dışında fetal ölüm, resorbsiyon, mumifikasyon, otoliz, ölü doğum, klinik enfekte veya klinik açıdan normal fakat kronik enfekte yavrular doğabilir. İki aylıktan küçük buzağılarda, zayıflık, ayakta duramama, ön, arka veya her iki bacakta bükülme, aşırı gerilme, ataksi, pateller refleks azalması, bilinç kaybı, eksoftalmi ve gözlerde asimetri ara sıra hidrosethalus ve spinal kordda daralma gibi doğumsal anomaliler görülebilir (Trees et al., 1999; Dubey ve ark., 2017; Linsay ve Dubey, 2020).

Neospora caninum'un siğirilerde olduğu gibi mandalarda da abortlara neden olabileceği bildirilmiştir (Ütük ve ark, 2016). Etkenin keçilerde abort, ölü doğum ve fetal ölümlere neden olduğu bilinmesine rağmen koyun abortlarındaki rolü tam olarak anlaşılamamıştır (Eşki ve ark, 2018; Utuk ve Eşki, 2019).

Hastalığın tanısında histopatolojik, moleküler (Polymerase Chain Reaction (PCR), Nested-PCR, Real Time PCR) ve serolojik yöntemler (c-ELISA, i-ELISA, Nükleik Asit Testleri (NAT) Immuno Fluorescence Antibody Test (IFAT)) kullanılmaktadır (Dubey ve ark., 2017; Linsay ve Dubey, 2020).

Bu çalışmanın amacı Osmaniye yöresindeki köpeklerin *N.caninum*'a maruziyet durumlarını c-ELISA yöntemi ile belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, Osmaniye ilindeki, farklı ırklardan (Kangal, Akbaş, Malaklı, Alman Çoban Köpeği, Pointer, Melez) toplam 105 köpekten steril vakumlu tüplere kan örnekleri alınmış ve 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek serumların ayrılması sağlanmıştır. Protokol numaraları verilen serumlar kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir (Ütük, 2018).

Köpekler ırk, yaş ve cinsiyetine göre gruplandırılmış (Tablo 1) ve gruplar ile seropozitiflik arasındaki ilişki ki-kare (X^2) testi ile analiz edilmiştir.

Köpeklerin etkene maruziyetini belirlemek amacıyla serum örnekleri anti-*N.caninum* antikorlarına karşı c-ELISA (VMRD, USA) yöntemi ile incelenmiştir. Uygulama kit protokolüne uygun olarak yapılmış ve yüzde inhibisyon değerleri (%) hesaplanmıştır. % 1 değeri ≥ 30 olan örnekler pozitif, <30 olanlar ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Utuk ve Eşki, 2017).

Bu çalışma için gerekli izinler Ceyhan Veteriner Fakültesi Araştırma Etik Kurulu'ndan alınmıştır (12.08.2020 tarih ve 05/03 no'lu karar).

Tablo 1. Seroprevalansın cinsiyet, yaş ve ırk gruplarına göre dağılımı

Değişkenler	Köpek sayısı (n)	Seropozitif köpek sayısı (n)	%	
Cinsiyet	Erkek	71	26	36,61
	Dişi	34	11	32,35
	<1	30	7	23,33
Yaş grupları	1-3	41	16	39,02
	≥ 3	34	14	41,17
	Saf	52	18	34,61
İrk	Melez	53	19	35,84
	Toplam	105	37	35,23

Bulgular

Çalışma sonucunda ortalama prevalans %35,23 (37/105) olarak belirlenirken erkeklerin %36,61 (26/71)'inde, dişilerin ise %32,35 (11/34)'inde anti-*N.caninum* antikorları tespit edilmiştir.

Yapılan Ki-Kare (X^2) testi sonucunda cinsiyet, yaş ve ırk ile seroprevalans arasındaki ilişkinin önemsiz ($p>0.05$) olduğu tespit edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Neospora caninum'un sığırcılık işletmelerinde neden olduğu yıllık ekonomik kaybın dünya genelinde 1,298 milyar dolar, Türkiye'de ise 40,5 milyon dolar olduğu tahmin edilmektedir (Demir ve ark., 2020).

Neosporosis'in ülkemizdeki ortalama yaygınlığının siğirilerde %14,7 ve keçilerde %14,44 olduğu belirtilmiştir (Eski ve Ütük, 2018; Ütük ve Eski, 2019). Hastalığın ülkemiz koyunlardaki yaygınlığı ise %0-2,7 arasında değişmektedir (Eşki ve ark., 2018).

Köpeklerde *N.caninum* seroprevalansını belirlemek amacıyla dünyanın farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda, IFAT, ELISA, c-ELISA, NAT gibi serolojik yöntemler kullanılmış ve prevalansın %0-100 arasında değiştiği bildirilmiştir (Dubey ve ark., 2017).

Ülkemizde ise köpek neosporosisinin seroprevalansını belirlemeye yönelik çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Yapılan çalışmalarda IFAT tekniği kullanılmış ve seroprevalansın Bursa'da %6,6 (7/106), Adana'da %18,2 (8/44) (Coşkun ve ark, 2013), Kırıkkale'de %28,9 (35/21) (Yıldız ve ark., 2009), Aydın'da %45 (54/120) (Ocaklı, 2011) ve Kars'ta ise %25,2 (53/210) (Mor ve Akça, 2012) olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada uygulama ve değerlendirme kolaylığı nedeni ile c-ELISA yöntemi tercih edilmiş ve Osmaniye yöresindeki köpeklerde seroprevalans %35,23 (37/105) olarak belirlenmiştir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda ırk, yaş ve cinsiyet ile seroprevalans arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda yaş ile seroprevalans (Ocaklı, 2011), bazılarında cinsiyet ile seroprevalans (Yıldız ve ark., 2009), bazılarında ise yaş, cinsiyet ve ırk ile seroprevalans (Çoşkun ve ark., 2013) arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu çalışmada ise yaş, cinsiyet ve ırk ile seroprevalans arasında istatistiksel açıdan önemli bir ilişki tespit edilememiştir ($p > 0,05$). Ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde değişkenler ve prevalans arasındaki ilişki konusundaki çelişkili sonuçların her çalışmadaki yaş gruplarının, örnek büyüklüklerinin ve örnekleme prosedürlerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Adana yöresindeki neosporosis seroprevalansının sığırlarda %10,7 (24/225) (Eşki ve Eski ve Ütük, 2018) koyunlarda %12,4 (29/234) (Eşki ve ark., 2018), keçilerde %8,9 (34/383) (Ütük ve Eski, 2019) ve köpeklerde %18,2 (8/44) (Çoşkun ve ark., 2013), Bursa'da sığırlarda %19,23 (20/104) (Eşki ve ark., 2016), köpeklerde %6,6 (7/106) (Çoşkun ve ark., 2013), Kırıkkale'de sığırlarda %32,72 (142/434) (Vural ve ark., 2006), köpeklerde %28,9 (35/21) (Yıldız ve ark., 2009), Kars'ta sığırlarda %5,59 (17/304) köpeklerde %25,2 (53/210) (Mor ve Akça, 2012), Osmaniye'de keçilerde %1,19 (3/154) (Eşki, 2019) ve bu çalışmada ise köpeklerde %35,23 (37/105) olarak belirlenmiştir.

Son konak ve ara konakların birlikte incelendiği bölgelerde prevalanslar arasındaki tutarsızlıkların olduğu görülmektedir. Bu farklılıkların, köpek dışındaki oostistlerin bölgelerin farklı iklimik koşullardan farklı düzeyde etkilenebileceği, her seropozitif köpeğin dışkısında oostistlerin bulunamayacağı, hastalığın ara konaklar arasındaki yayılmasında horizontal bulaşma dışında vertikal bulaşmanın da etkili olabileceği gibi sebeplerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışma ile ilk defa Osmaniye yöresindeki köpeklerin *N.caninum*'a maruziyet durumları hakkında bilgi verilmiştir. Ülkemizde neosporosisin başta sığırlar olmak üzere ara konaklardaki yaygınlığı hakkında çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen domestik sıklustaki en önemli konağı olan köpeklerdeki durumu hakkındaki çalışmaların yetersiz olduğu, hastalığın bulaşma dinamiklerinin daha iyi anlaşılabilmesi, daha etkin korunma ve kontrol stratejilerinin geliştirilebilmesi için gerek domestik gerekse silvistik sıklustaki ara ve son konaklar üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Teşekkürler: Saha çalışmalarında verdikleri desteklerden dolayı Osmaniye Belediyesi'ne teşekkür ederiz.

Maddi destek ve Çıkar ilişkisi: Yazarlar arasında herhangi bir çıkar ilişkisi bulunmamaktadır.

Kaynaklar

- Çoşkun SZ, Aydın L, Bauer C. (2000) Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in domestic dogs in Turkey. *Vet Record*. 146, 649.
- Demir PA, Eşki F, Ütük AE. (2020). Estimating the total economic costs of *Neospora caninum* infections in dairy cows in Turkey. *Trop Anim Health Prod*. 52, 1-8. DOI:10.1007/s11250-020-02351
- Dubey JP, Hemphill A, Calero-Bernal R, Schares G. (2017) *Neosporosis in animals*. 1 st ed. London: Boca Raton (FL): CRC Press, Taylor & Francis Group. ISBN: 9781498752541.
- Dumanlı N, Aktaş M. (2015) Toxoplasmatidae (Toxoplasma, Neospora). Dumanlı N, Karaer Z, editör. *Veteriner Protozooloji*. 2. Baskı. Ankara: Medisan Yayınevi. ISBN: 9789757774792.
- Eşki F, Demir P, Babür C, Ütük AE. (2018) Türkiye'nin Adana yöresindeki koyunlarda *Toxoplasma gondii* ve *Neospora caninum* seroprevalansının araştırılması. *Etilik Vet Mikrobiyol Derg*. 29(1), 19-23.
- Eşki F, Önat K, Günaydın E, Pekyaya S, Çetin N, Ütük AE. (2016). Detection of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Chlamydomydia abortus* and *Coxiella burnetti* antibodies in Aborted Holstein Cows. Proceedings of the 1st International Mediterranean Science and Engineering Congress, Adana, Turkey.
- Eşki F, Ütük AE. (2018) Detection of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle in Adana province of Turkey. *Van Vet J*. 29(2), 93-99.
- Eşki F. (2019) Investigation of Anti-*Neospora caninum* antibodies in hair goats in Osmaniye province. International VETEXPO-2019 Veterinary Sciences Congress September 20-22. Double Tree by Hilton Hotel, Avclar /Istanbul, Turkey. P.121
- Lindsay DS, Dubey JP. (2020) Neosporosis, Toxoplasmosis, and Sarcocystosis in ruminants: An Update. *Vet Clin Food Anim*. 36, 205-222. DOI:10.1016/j.cvfa.2019.11.004.
- Mor N, Akça A, Kars yöresinde sığır ve köpeklerde *Neospora caninum* üzerine epidemiyolojik araştırmalar: gruplararası çalışma. (2012) *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 18 (Suppl-A), A193-A199. DOI:10.9775/kvfd.2012.6181
- Ocaklı S. (2011). Aydın ilindeki köpeklerde *Neospora caninum* enfeksiyonunun araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, T.C. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Aydın.
- Reichel MP, Alejandra Ayanegui-Alcérreca M, Gondim LF, Ellis JT. (2013) What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle-the billion-dollar question. *Int J Parasitol*. 43, 133-142. DOI: 10.1016/j.ijpara.2012.10.022.
- Trees AJ, Davison HC, Innes EA, Wastling JM. (1999) Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. *Int J Parasitol*, 29, 1195-200. DOI: 10.1016/s0020-7519(99)00093-4.
- Ütük AE, Yılmaz O, Balkaya İ. (2016) Detection of Anti-*Neospora caninum* antibodies in Anatolian Water Buffalos from Afyonkarahisar province of Turkey, International Conference on Natural Science and Engineering (ICNASE'16), March 19-20, Kilis, Turkey.

- Utuk AE, Eski F. (2017) Detection of anti-*Neospora caninum* antibodies in a goat flock in Kilis province of Turkey. *Inter J Vet Sci.* 6(2), 114-117.
- Utuk AE, Eski F. (2019) Investigation of anti-*Neospora caninum* antibodies and disease-related risk factors in goats. *Med Weter.* 75(11), 678-683. DOI: dx.doi.org/10.21521/mw.6289.
- Ütük AE. (2018) Protozoal hastalıkların laboratuvar tansı, *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Intern Med-Special Topics.* 4(1), 17-22.
- Vural G, Aksoy E, Bozkir M, Kuçukayan U, Erturk A. (2006) Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle herds in Central Anatolia, Turkey. *Veterinarski Arhiv.* 76, 343-349.
- Yıldız K, Yasa Duru S, Yagcı BB, Babur C, Ocal N, Gurcan S, Karaca S. (2009) Seroprevalence of *Neospora caninum* and coexistence with *Toxoplasma gondii* in dogs. *Türkiye Parazitol Derg.* 33, 116-119.