

Ankara Yöresinde Sportif ve Gösteri Amaçlı Yetiştirilen Atlarda *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) ve *Theileria equi* (Syn. *Babesia equi*, Laveran, 1901)'nin Yayılışının Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Araştırılması

H. Zeynep GÜÇLÜ, K. Zafer KARAER

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Ankara

ÖZET: Bu çalışma 2004 yılında Ankara yöresinde sportif ve gösteri amaçlı yetiştirilen atlardan toplanan kanlarda *Babesia caballi* ve *Babesia equi*'nin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve mikroskopik muayene ile karşılaştırmalı tanısı amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla Ankara'da bulunan özel kulüp ve resmi kurumlarda sportif ve gösteri amaçlı yetiştirilen atların bulunduğu çalışma merkezlerine gidilerek; rastgele seçilen toplam 200 attan PZR'da kullanılmak üzere kene mevsiminde ve kene mevsimi dışında EDTA'lı tüplere kan alınmıştır. Aynı atlardan tekniğine uygun olarak ince yayma kan frotisi hazırlanarak, Giemsa ile boyanmış ve *Babesia* spp. yönünden incelenmiştir. Ayrıca bu merkezlerde bulunan atların kene yönünden kontrolleri de yapılmıştır. Kene bulunamamıştır. Atlardan alınan 200 örneğin muayenesinde, perifer kan frotisi bakısında %3, PZR yönteminde ise %10 oranında pozitiflik (*B. caballi* %3; *T. equi* %7) saptanmış ve sonuçlar arasındaki farkın istatistiksel olarak da önemli olduğu ($p<0,001$) saptanmıştır. Sonuç olarak, bu çalışma ile Türkiye'de atlarda ilk defa PZR yöntemi ile *Babesia* türleri saptanmış; *Theileria equi*'nin *Babesia caballi*'ye göre bulunma oranının daha yüksek olduğu görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Ankara, *Babesia caballi*, *Theileria equi*, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Detection of *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) and *Theileria equi* (Syn. *Babesia equi*, Laveran, 1901) by the Polymerase Chain Reaction (PCR) in Show and Sport Horses in the Region of Ankara

SUMMARY: The aim of this study was to compare the diagnosis of *Babesia caballi* and *Theileria equi* by the polymerase chain reaction (PCR) and microscopic examination of blood specimens collected from show and sport horses in the region of Ankara in 2004. The blood specimens were collected from randomly selected 200 show and sport horses in the region of Ankara during the tick season as well as before and after the tick season for PCR testing. At the same time, Giemsa stained peripheral blood smears were examined for the presence of *Babesia* spp. and also the horses were examined for the presence of ticks. Of the 200 horse blood samples analyzed, 3% were found to be positive by microscopic examination and 10 % (*B. caballi* %3; *T. equi* %7) by the polymerase chain reaction. The difference between these two methods was confirmed to be statistically important ($p<0,001$). This is the first study in which *Babesia* species were investigated in horses in Turkey using the PCR method. *Theileria equi* was found to be more prevalent than *Babesia caballi*.

Key Words: Ankara, *Babesia caballi*, *Theileria equi*, polymerase chain reaction (PCR)

GİRİŞ

Babesiosis, *Babesia* türlerinin neden olduğu protozoer bir hastalıktır. Hastalık etkenleri *Ixodidae* ailesine bağlı vektör kene türleri tarafından hem transovarial ve hem de transstadial olarak nakledilirler. Tektırnaklılarda *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) ve *Babesia equi* (Laveran, 1901) türleri babesiosis'e

sebebi olur. Atlarda *Babesia bigemina*'ya benzeyen intraeritrositik hemoparazitler ilk olarak 1899'da Guglielmi tarafından gözlenmiştir. Bunu takiben 1901 ve 1902'de Theiler, *B. equi*'nin sebebi olduğu, tektırnaklı babesiosisini ilk olarak tarif etmiş, 1901'de Laveran bu küçük *Babesia*'yı *B. equi* olarak isimlendirmiştir. Theiler 1905'te *B. equi*'yi zebraalarda tespit etmiş ve kan inokulasyonu ile zebraadan ata nakletmiştir. Daha sonraları, *B. equi* ile enfekte *Rhipicephalus evertsi* vasıtasıyla zebraalarda hastalığın meydana geldiği görülmüştür. Son yıllarda ise *B. equi*'nin hem omurgalıda

Geliş tarihi/Submission date: 15 Kasım/15 November 2005

Düzeltilme tarihi/Revision date: 11 Mayıs/11 May 2006

Kabul tarihi/Accepted date: 20 Mart/20 March 2007

Yazışma /Corresponding Author: H. Zeynep Güçlü

Tel: (+90) (312) 317 03 15 / 277 Fax: -

E-mail: zeynepguclu@hotmail.com

(lenfositler şizogoni) hem de vektör kenede (transovarial geçiş yoktur) gelişmesinin deneysel olarak ortaya konması ile *Theileria* türlerine benzediği ve *T. equi* ismini aldığı tespit edilmiştir. Bu yüzden hastalık da atların theileriosisi olarak isimlendirilmektedir. Hastalık perakut, akut ve kronik seyirli olup ateş, anemi, ikterus, hepatosplenomegali ile karakterizedir. *Babesia* türlerinin coğrafik dağılımı vektör kenelerin yayılışları ile yakından ilgilidir (8, 12, 18-21, 27).

Bu çalışmada, gösteri ve binicilik sporu amacıyla Ankara'da farklı kurumlarda yetiştirilen atlarda performans kayıplarına neden olan subklinik seyirli babesiosisin Türkiye'de ilk defa Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma için gerekli materyali toplamak amacıyla, 2004 yılında kenelerin aktif olmadığı Ocak ve Mart aylarında ve kenelerin aktif olduğu Mayıs ve Temmuz aylarında olmak üzere 4 defa Ankara'da sportif ve gösteri amaçlı, bakım ve besleme şartları birbirine benzeyen, resmi ve özel kurumlara gidilmiş; her defasında 25'i resmi, 25'i özel kurumlardan rastgele seçilen 4 yaşın üzerinde çoğunluğu İngiliz ve Avrupa ırklarına ait toplam 50 attan PZR için EDTA'lı tüplere Vena jugularis'den kan alınmış ve aynı atlardan tekniğine uygun olarak perifer kan frotisi hazırlanmıştır.

Perifer kan frotileri havada kurutulduktan sonra, laboratuvarında metil alkolde 3-5 dakika tespit edilmiş ve %5'lik Giemsa boya solüsyonu ile oda ısısında 30-45 dakika boyanmıştır. Boyanan frotiler musluk suyu altında yıkayıp kurutulduktan sonra immersiyon yağı damlatılarak mikroskopun 100'lük objektifinde *Babesia* türleri yönünden kontrol edilmiş, yanlı olabileceği düşüncesi ile soy düzeyinde teşhis edilmiştir.

İlk aşamada parazit DNA'sının elde edilmesi amacıyla EDTA'lı kanlarda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (7, 13).

GENBANK'tan *B. equi* EMA-1 gen bölgesine ait diziler ve *B. caballi* RAP-1 gen bölgesine ait diziler alınmıştır. Primerler, GATA Viroloji Laboratuvarında OligoYap 2.0 bilgisayar programı kullanılarak bu diziler üzerinde dizayn edilmiş ve MWG (Almanya) firmasına sentezletirilmiştir. *Babesia equi* için dizayn edilen primerler Bema-P1 5'-atgattccaaatccttgcctt-3' ve Bema-P2 5'-cgcttgcctggagccttga-3' olup ampikon büyüklüğü 497 bp'dir. *Babesia caballi* için dizayn edilen primerler Bcab-P1 5'-cgacaccaaggattattcgagaa-3' ve Bcab-P2 5'-attccaaagattaccacacagc-3' olup ampikon büyüklüğü 539 bp'dir. Toplam 25 µl'lik volümde hazırlanan PZR karışımı için 1x PCR buffer (Sigma, Almanya), 2,5 mM MgCl₂ (Sigma, Almanya), 0,2mM dNTP (Sigma, Almanya), 1,5 U taq DNA polymerase (Sigma, Almanya), 20 pmol primer, 1µl örnek DNA ilave edilerek distile su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır. Reaksiyon şartları 94 °C'de 5 dakika, 94 °C'de 30 sn, 57 °C'de 30 sn (*B. caballi* için 54 °C), 72 °C'de 45 sn. 35 siklus

ve 72 °C'de 5 dakika şeklinde Biometre T Gradient (Whatmann, Biometra) PZR makinesinde gerçekleştirilmiştir.

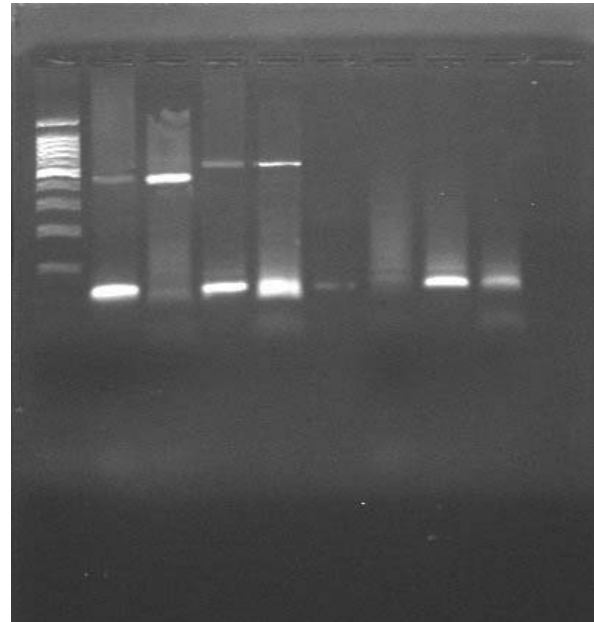
Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda elde edilen amplifikasyon ürünleri %1,5'luk agaroz jelde elektroforeze tabi tutulmuştur. Elektroforez sonucunda oluşan bantlar EtBr (Sigma, Almanya) ile boyanıp, GelDoc (BioRad, ABD) Jel Dokümantasyon Sistemi ile görüntülenmiş ve QuantityOne analiz programı (BioRad, ABD) ile analiz edilmiştir.

Testte pozitif kontrol olarak *B. caballi* ve *B. equi* DNA'sı (USDA suşu, Teksas Üniv. Veteriner Fak. Patobiyoloji Bölümü, Dr. Patricia Holman'dan temin edilmiştir) ve negatif kontrol olarak distile su kullanılmıştır.

Çalışmada uygulanan yöntemlerin uyumlulukları Kappa testiyle, her iki tanı yöntemi ile elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirmesi ise χ^2 (ki-kare) testiyle yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışmada PZR değerlendirmesi agaroz jel elektroforeze tabi tutulan PZR ürünlerinin oluşturduğu bantların QuantityOne analiz programında görüntülenmesi ile yapılmış olup, bu şekilde (Şekil 1) 1 ve 3 nolu kuyucuktaki örnekler için PZR ürünlerinin oluşturduğu pozitif bantların görünümü ile 2 ve 4 nolu kuyucuklara ait pozitif kontrol bantların görünümü arasındaki uyum ve yine negatif örnekler için oluşturulmayan bantların görünümü (7-8 nolu) ile bantsız negatif kontrollerin görünümü (5-6 nolu) arasındaki benzeri görüntüler dikkate alınarak örnekler pozitif veya negatif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 1. SM: Size Marker; 1:*Babesia equi* pozitif örnek; 2: *T. equi* pozitif kontrol; 3: *Babesia caballi* pozitif örnek; 4: *B. caballi* pozitif kontrol; 5: *T. equi* negatif kontrol; 6: *B. caballi* negatif kontrol; 7-8: Negatif örnekler

Bu çalışmada babesiosisin prevalansı perifer kan frotisi (PKF)'ne göre %3 (6/200), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)'na göre %10 (20/200) olarak saptanmıştır (Tablo 1.) Aynı tabloda çalışma merkezlerine göre pozitifliğin dağılımında PKF pozitifliğinin resmi kurumlara ait yetiştirilen atlarda %0,78, özel kulüplerde yetiştirilen atlarda %6,85 olduğu; PZR ile pozitifliğin resmi kurumlara ait yetiştirilen atlarda %6,29, özel kulüplerde yetiştirilen atlarda ise %16,43 olduğu anlaşılmaktadır.

Çalışmada uygulanan tanı yöntemlerinin duyarlılık, özgüllük ve uyumluluk bakımından değerlendirmelerinin yapılabilmesi için PKF ve PZR' dan elde edilen pozitif ve negatif sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışma merkezlerine göre PKF ve PZR pozitifliklerinin dağılımı

Çalışma Merkezi	Hayvan sayısı	PKF		PZR	
		Pozitif	%	Pozitif	%
Resmi Kurum	127	1	0,78	8	6,29
Özel Kulüp	73	5	6,85	12	16,43
Toplam	200	6	3,00	20	10,00

Tablo 2. PZR ve PKF sonuçlarının karşılaştırılması

	PZR		Toplam
	Neg	Poz	
PKF (-)	180	14	194
PKF (+)	0	6	6
Toplam	180	20	200

Tablo 2'nin analizinde; PZR esas alındığında PKF muayenelelerinin duyarlılığının (sensitivity: gerçekten hasta olan bireyin test tarafından hangi oranda saptanabildiğini gösteren olasılıktır) %70, özgüllüğünün (specificity: bir testin gerçekte hasta olmayanları ayırabilme yeteneğini veren oran) %100; Kappa testi ile iki test arasındaki uyumluluğun ise (iki testin birbiri ile uyumunu gösterir) %66,2 olduğu görülmüş; aynı zamanda Ki-Kare testi ile iki test arasında belirlenen pozitiflik farkının istatistiksel olarak da önemli olduğu anlaşılmıştır ($p < 0,001$).

Kontrolleri yapılan hayvanlarda kene enfestasyonlarına rastlanılmamıştır.

TARTIŞMA

Tektırnaklılarda babesiosis, *B. caballi* ve *B. equi* türleri tarafından meydana getirilen, tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olarak görülen ve *Ixodidae* ailesine bağlı vektör kene türleri tarafından transovarial ve transstadial olarak nakledilen önemli bir hastalıktır (8, 19, 21, 27). Vektör kenelerin bulunduğu dünyanın her yerinde hastalığa rastlamak mümkündür (12), ancak Türkiye'de gerek vektör keneler bakımından, gerekse direkt at babesiosisi ile ilgili yapılan sadece 10 çalışma (1-4, 9, 15-17, 23, 24) epidemiyolojik manada hastalığın de-

ğerlendirilmesinde yeterli olmadığı için, bugün hastalığın gerçek boyutları ve meydana getirmiş olduğu zararlar bilinmemektedir.

Yarış ve gösteri atlarında babesiosis'e neden olan türler, özellikle uluslararası veya ulusal alanda düzenlenen yarışmalar veya gösteri amacıyla gerçekleşen kontrolsüz hayvan hareketleri ile enfekte at veya taşıyıcılar vasıtasıyla bir ülkeden diğer ülkeye veya ülke sınırları içinde bir bölgeden diğer bölgeye taşınmaktadır. Babesiosis yarış ve gösteri atlarında performansı olumsuz yönde etkilemekte, özellikle ağır tempolu çalışmalar hastalığın şiddetini arttırmaktadır. Benzer şekilde subklinik seyirli hastalığın akut hale dönüşmesine de neden olmaktadır. Bundan dolayı hem klinik hem de subklinik enfeksiyonların tanısına ihtiyaç bulunmaktadır. Özellikle subklinik enfekte portörlerin belirlenmesi hastalığın yayılmasının önlenmesi bakımından önemlidir (14). Bu çalışmada da subklinik olarak direkt tanı pozitifliklerin PKF bakılarına (%3) göre PZR'nin (%10) daha duyarlı, özgül ve istatistiksel olarak da elde edilen sonuçların daha önemli olduğu anlaşılmıştır.

Bugüne kadar diğer hayvan türlerinin babesiosisinde olduğu gibi at babesiosisinin tanısında da direkt etkenin saptanması veya indirekt olarak etkene ait antijen veya antikor tespitine yönelik yöntemler geliştirilmiştir. İndirekt yöntemlerden IFAT, ELISA, CFT gibi teknikler yıllardır bu amaçla kullanılmıştır. Bu tanı yöntemlerinin uygulanmalarına ve sonuçlarına göre birbirine üstünlükleri olduğu bilinmektedir (6).

At babesiosisinde indirekt tanı yöntemlerinden CFT uluslararası öneme haiz olup, Türkiye'nin de dahil birçok ülkede, at ithali veya farklı amaçla ülkeye giriş izni bu test sonuçlarına göre verilmektedir (11). Ancak bu test ve benzer serolojik yöntemlerle enfekte hayvanları (özellikle tedaviden sonra) saptamak güçtür. Yine hastalığın çok erken veya latent döneminde test duyarlılıklarının düşük olması, çapraz reaksiyonlara bağlı yanlış sonuçlar, serolojik yöntemlerin olumsuzlukları olarak sayılabilir. Bu yüzden özellikle portör hayvanların belirlenmesinde PZR ve benzeri biyoteknolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bu teknik ile taşıyıcı hayvanlarda ki *Babesia* türlerini de içine alan birçok patojen etken duyarlı ve özgül teşhis edilebilmektedir. Bu yüzden bu çalışmada PZR tekniği at babesiosisinde Türkiye'de ilk kez uygulanmıştır.

Babesiosisde hastalığı atlatan hayvanlar, uzun süre vücutlarında, az miktarda parazit taşıyarak vektör kenelerin enfeksiyon kaynağı olmakta ve hastalık için portörlük yapmaktadırlar. Bu durumda taşıyıcı hayvanlarda direkt tanı yöntemlerinden PKF ile etkeni teşhis etmek güçleşmekte ve yanlışlılara sebep olmaktadır (10, 25). Perifer kan frotisinde bir diğer olumsuzluk ise tür ayrımında ortaya çıkmaktadır. Buna karşılık gerek latent ve subklinik seyirli taşıyıcı durumdaki hayvanların tespitinde, gerekse hastalığa sebep *Babesia* türlerinin saptanmasında PZR yöntemi bugün için en uygun tekniktir (26). Bununla ilgili olarak yapmış olduğumuz bu çalışmada, froti bakırlarında tür ayrımına gidilmeksizin *Babesia* spp.'nin bulunması

ve oranının %3 olması, buna karşılık PZR'da *Babesia* spp.'nin bulunma oranının %10 olması ve ayrıca türlerin ayırımının da yapılarak *B. caballi*'ye (%3) ve *B. equi*'ye (%7) rastlanması, PZR'nun perifer kan froti bakılarına göre daha üstün tanı tekniği olduğunu göstermiş, ayrıca PZR'nun PKF'ye göre bu üstünlüğü istatistiksel olarak da doğrulanmıştır.

Polimeraz zincir reaksiyonu ile kanda %0,000083 oranındaki paraziteminin saptanabilmesi (5, 22), latent enfeksiyonların tanısında, ithal edilecek atların portörlük bakımından kontrolünde, yarış veya gösteri atlarının düşük performans durumunda babesiosis'in araştırılmasında, değerlendirilmesinde ve tedavi etkinliğinin belirlenmesinde PZR'ın önemli bir tanı yöntemi olduğunu göstermektedir (26). Bu çalışmada da sağlıklı atlardan rastgele seçilenlerde görülen %10'luk *Babesia* spp. pozitifliği sonucu hem tekniğin hem de hastalığın önemini vurgulamıştır.

Türkiye'de bugüne kadar atlarda babesiosis türlerinin araştırıldığı çalışmalardan (1-4, 9, 15-17, 23, 24) serolojik yöntemle yapılan beşi (1, 4, 9, 17, 23) dışında, diğer çalışmalar perifer kan froti bakışı şeklindedir. Bu çalışmada PZR ile karşılaştırmak amacıyla yapılan frotelerde soy bazında %3'lük bir pozitiflik saptandığı halde bu durumun PZR ile %10 olduğu görülmüştür. Ayrıca PZR ile bu oranın türe göre dağılımında da farklı sonuçlar elde edilmiş ve *T. equi*'nin (%7), *B. caballi* (%3)'ye göre daha yaygın olarak bulunduğu tespit edilmiştir. Türkiye'de atlarda babesiosis'i serolojik yöntemle saptamak amacıyla yapılan çalışmalarda IFAT ile *B. caballi* %0-%33,33, *B. equi* %0-%100, CFT ile *B. caballi* %0-%3,44, *B. equi* %0-%43,47, ELISA ile *B. caballi* %0, *B. equi* %56,8 oranlarında bulunduğu bildirilmiştir (1, 4, 9, 17, 23). Ancak elde edilen bu serolojik verilerin yukarıda bahsedildiği gibi serolojik tanıdaki bir takım olumsuzluklara ilaveten özellikle portörlerin belirlenmesinde yanıltıcı olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada da *B. equi*'ye (*B. caballi*'ye göre) daha sık rastlanması, bizim çalışmamızla paralellik göstermesi bakımından değerlendirilebilecek bir unsurdur.

Sonuç olarak bu çalışma ile Türkiye'de atlarda ilk defa PZR ile vektör keneler için hastalık kaynağı oluşturabilecek düzeyde etken taşıyan ancak sağlıklı görünen hayvanlarda *Babesia* türleri saptanmış ve bundan sonra yapılacak çalışmalarda PZR veya benzer moleküler biyolojik tekniklerin önerilmesinin uygun olacağı kanaatine varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmamız sırasında her konuda bilgisine ve yardımlarına başvurduğumuz Prof. Dr. Mehmet TANYÜKSEL ve Doç. Dr. Mehmet YAPAR'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Akkan HA, Karaca M, Tütüncü M, Değer S, Keleş I, Ağaoğlu Z, 2003. Serologic and Microscopic Studies on Babesiosis in Horses in The Eastern Border of Turkey. *J Equine Vet Sci*, 23: 181-183.

2. Aktaş M, Dumanlı N, 2000. Malatya Sultansuyu Tarım İşletmesi Atlarında Subklinik *Babesia equi* (Laveran, 1901) ve *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) Enfeksiyonları. *Türkiye Parazit Derg*, 24(1): 55-56.
3. Alibaşoğlu M, Yalçın Ş, 1965. 1933-1961 Yılları Arasında Ankara ve Yöresinde Atlarda Görülen Hastalıklara Toplu Bir Bakış. *AÜ Vet Fak Derg*, 12 (1-2): 98-111.
4. Balkaya İ, Erdoğan, SZ, 2006. Investigation of Prevalence of *Babesia equi* (Laveran, 1901) and *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) in Horses by Serological Methods in Elazığ and Malatya Province. *FÜ Sağlık Bil Derg.*, 20 (1): 61-63.
5. Bashiruddin JB, Camma C, Rebelo E, 1999. Molecular Detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Horse Blood by PCR Amplification of Part of the 16s rRNA Gene. *Vet Parasitol*, 84 (1-2): 75-83.
6. Bose R, Jorgensen WK, Dalgliesh RJ, Friedhoff KT, De Vos AJ, 1995. Current State and Future Trends in the Diagnosis of Babesiosis. *Vet Parasitol*, 57: 61-74.
7. D'oliveira C, Weide MVD, Habela MA, Jacquiet P, Jongejan F. 1995. Detection of *Theileria annulata* in Blood Samples of Carrier Cattle by PCR. *J Clin Microbiol*, 33 (10): 2665-2669.
8. De Waal DT, 1992. Equine Babesiosis: A Review. *Br Vet J*, 148 (6): 6-14.
9. Erdoğan SZ, 2005. Marmara ve Ege Bölgesinde Atlarda *Babesia equi* (Laveran, 1901) ve *Babesia caballi* (Nuttall, 1910)'nin Yayılışının Serolojik Yöntemlerle Araştırılması. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 18-25 Eylül 2005, İzmir.
10. Figueroa JV, Buening GM, 1995. Nucleic Acid Probes as a Diagnostic Method for Tick-Borne Hemoparasites of Veterinary Importance. *Vet Parasitol*, 75: 75-92.
11. Friedhoff KT, 1982. Die Piroplasmen Der Equiden-Bedeutung Für Den Internationalen Pferdeverkehr. *Berl Münch Tierarztl Wschr*, 95: 368-374.
12. Friedhoff KT, 1988. Transmission of Babesia. In: Babesiosis of Domestic Animals and Man, Ed.:M. Ristic, Boca Raton, Florida, CRC Press, p. 23-52.
13. Gubbels JM, De Vos AP, Van Der Weide M, Viseras J, Schouls LM, De Vries E, Jongejan F, 1999. Simultaneous Detection of Bovine *Theileria* and *Babesia* Species by Reverse Line Blot Hybridization. *J Clin Microbiol*, 37 (6): 1782-1789.
14. Hailat NQ, Lafi SQ, Al-Darraj AM, Al-Ani FK, 1997. Equine Babesiosis Associated with Strenuous Exercise: Clinical and Pathological Studies in Jordan. *Vet Parasitol*, 69 (1-2): 1-8.
15. İnci A, 1997. Gemlik Askeri Harası Atlarında *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) ve *Babesia equi* (Laveran, 1901)'nin Mikroskopik Muayeneye Saptanması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 21: 43-46.
16. İnci A, 2002. Kayseri Yöresinde Tektirnaklılarda *Babesia equi* ve *Babesia caballi* Yaygınlığının Mikroskopik Muayene ile Araştırılması. *FÜ Sağlık Bil Derg.*, 16 (1): 85-88.

17. **Kurt C**, 2005. Adana Yöresi Atlarında *Babesia equi* ve *Babesia caballi*'nin Yayılışının Mikroskopik ve Serolojik (ELISA) Yöntemlerle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
18. **Ristic M, (ed)**, 1988. World-Wide Impact of Babesiosis. In: *Babesiosis of Domestic Animals and Man*. Boca Raton, Florida: CRC Press, p. 1-22.
19. **Levine ND**, 1985. Veterinary Protozoology. Iowa State University Press, Ames.
20. **Ristic M, Kreier JP, (eds)**, 1981. *Babesiosis*. New York, Academic Press, p. 1-24.
21. **Mimioğlu M, Göksu K, Sayın F**, 1969. Veteriner ve Tıbbi Protozooloji II. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
22. **Nicolaiewsky TB, Richter MF, Lunge VR, Cunha CW, Delagostin O, Ikuta N, Fonseca AS, Da Silva SS, Ozaki LS**, 2001. Detection of *Babesia equi* (Laveran, 1901) by Nested Polymerase Chain Reaction. *Vet Parasitol*, 101: 9-21.
23. **Öncel T, Vural G, Gıcık Y, Arslan MO**, 2005. Kars Yöresinde Atlarda *Babesia equi*'nin Seropozitifliği. 14. Ulusal Parazitoloji Kongresi, 18-25 Eylül 2005, İzmir.
24. **Özcan HC**, 1961. Ankara ve Civarında Evcil Hayvanlarda Görülen Piroplasmose Vak'aları ve Tedavileri Üzerinde Araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları*, Ankara, No: 143.
25. **Ristic M, Kreier JP, eds**, 1981. *Babesiosis*. New York, Academic Press, p. 25-64.
26. **Rampersad J, Cesar E, Campbell MD, Samlal M, Ammons D**, 2003. A Field Evaluation of PCR for The Routine Detection of *Babesia equi* in Horses. *Vet Parasitol*, 114 (2): 81-7.
27. **Soulsby E JL**, 1986. Helminths, Artropods & Protozoa of Domesticated Animals. 7th Edition. Bailliere Tindall, London, p.809.