

ELAZIĞ YÖRESİNDE TROPİKAL THEİLERIOSİSE KARŞI AŞILANAN SİĞIRLarda SAHA ÇALIŞMALARI*

Münir AKTAŞ Nazir DUMANLI

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 13.02.1998

Field Studies in cattle Vaccinated with *Theileria annulata* Schizont Vaccine in Elazığ Vicinity

SUMMARY

This study was performed in cattle in Elazığ Vicinity between February 1995 and March 1996. Initially, serum antibodies against *Theileria annulata* were investigated by immuno fluorescence assays. Furthermore, piroplasm forms of *Theileria annulata* were investigated in blood smears. The prevalence of specific antibodies was 27.5% (33/120) and piroplasm forms of *Theileria annulata* were noticed in 20 animals (16.6%).

At the second stage of the study, 55 seronegative animals were included. In 40 cattle, *T.annulata* schizont vaccine as administered, and the remaining 15 animals served as controls. Blood samples were collected monthly for a year. In 34 vaccinated animals (85%), antibodies against the antigens of *Theileria annulata* piroplasm and schizont forms were detected. Nine animals (22.5%) were the carriers of piroplasm forms of *T.annulata*. In control animals, 8 became positive for antibodies against the antigens of *T.annulata* schizont and piroplasm forms. These animals were also positive for the presence of *T.annulata* piroplasms.

After vaccination, seropositivity reduced from the 6 th month and continued until the 12 th month. Antibody titers ranged between 1:20 and 1:2560 for piroplasm antigens and 1:40 and 1:2560 for schizont antigens. In control animals, piroplasm specific antibodies were first detected during May and schizont antibodies during June. The antibody titers in control animals ranged between 1:20 and 1:640 for piroplasm antigens and 1:40 and 1:80 for schizont antigens.

On the animals and in the premises where cattle were housed, *Hyalomma.a.anatolicum* and *H.detritum* species were detected. In the examination salivary glands of 212 *H.a.anatolicum* 10.84% were found to be infected with *Theileria annulata*. This rate in 16 *H.detritum* was 6.25%.

It was determined that antibodies against *T.annulata* schizont and piroplasm were present during the research period in vaccinated and nonvaccinated cattle on which infected ticks were detected.

Key Words : Theileria annulata, cattle, serology, IFA

ÖZET

Bu araştırma, şubat 1995 - Mart 1996 tarihleri arasında Elazığ yöresinde sığırlar üzerinde yürütülmüştür. Başlangıçta 120 sığır *Theileria annulata*'ya karşı antikor yönünden IFA testi ile incelenmiş, 33'ü (%27.5) seropozitif bulunmuş, seropozitif sığırların 20'sinde *T.annulata*'nın piroplazm şekilleri görülmüştür.

Seronegatif oldukları belirlenen 55 sığır seçilmiş ve bunlardan 40'ına *Theileria annulata* şizont aşısı uygulanmış, 15 sığır kontrol olarak bırakılmıştır. Aşılamanın ardından 55 hayvandan her ay kan alınarak bir yıl süre ile materyal toplanmıştır. Tropikal theileriosise karşı aşılanan 40 sığırda 34'ünün (%85) *Theileria annulata* piroplazm ve şizont antijenine karşı antikor taşıdığı ve bunlardan 9 (%22.5) sığırın da piroplazm taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Kontrol

* Bu araştırma F.Ü.Araştırma Fonu (FÜNAF-170) tarafından desteklenmiş ve aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

grubunda bulunan 15 negatif sığırдан, hastalık sezonu boyunca, 8'inin (%53.3) *Theileria annulata* piroplasm ve şizont antijenine karşı antikor taşıdığı ve bunların aynı zamanda piroplasm taşıyıcısı da olduğu tespit edilmiştir.

Aşılamadan sonra seropozitiflik 6'inci aydan itibaren azalarak 12 ay kadar devam etmiştir. *T.annulata* piroplasm antijenine karşı antikor titresi 1:20 ve 1:2560, şizont antijenine karşı antikor titresi ise 1:40 ve 1:2560 arasında saptanmıştır. Kontrol grubunda ilk piroplasm antikorları Mayıs, şizont antikorları Haziran ayında görülmüş ve yıl boyu devam etmiştir. Piroplasm antikor titresi 1:20 ve 1:640, şizont antikor titresi ise 1:40 ve 1:80 olarak belirlenmiştir.

Bir yıl boyunca takip edilen hayvanlar üzerinde ve barınaklarında *Hyalomma* soyuna bağlı *H.a.anatolicum* ve *H.detritum* türleri bulunmuştur. Tükürük bezî açılan 212 *H.a.anatolicum*'un 23'ü (%10.84), 16 *H.detritum*'un biri (%6.25) enfekte bulunmuştur.

Enfekte kene tespit edilen aşılı ve aşısız sığırlarda *T.annulata* şizont ve piroplasm antikorlarının araştırma süresi sonuna kadar devam ettiği tespit edilmiştir.

GİRİŞ

Tropikal theileriosiste özellikle latent enfeksiyonların teşhisinde serolojik testlerden yararlanılır (6, 7, 14).

Son yıllarda, çeşitli ülkelerde serolojik çalışmalar yapılmıştır. Çin'de hastalığın seroinsidensinin yerli sığırlarda %11.9, ithal sığırlarda %61 olduğu belirtilmiştir (31). Hastalık mevsiminden önce *Theileria annulata*'nın piroplasm prevalansı Fas'in Doukkala bölgesinde %48.5 olarak belirlenmiş (12), Hindistan'da piroplasm prevalansı %14.94, seroprevalans ise %30-60 olarak tespit edilmiştir (27).

Türkiye'de ilk seroepidemiolojik çalışma Ankara'nın Beytepe köyünde yapılmış ve IFA testi ile *T.annulata*'ya karşı %6.4 oranında antikor belirlenmiştir (3). Daha sonra aynı test ile Türkiye'nin değişik bölgelerinde %10.7 (4); %41, %14, %10 (10); %40, %46.8, %29, %33.3 ve %91.4 (23) oranında antikor tespit edilmiştir.

Hyalomma türlerinde *T.annulata* enfeksiyonunu belirlemek amacı ile yapılan çalışmalarda *H.a.anatolicum*, *H.a.excavatum* ve *H.detritum*'un tükürük bezlerinde *T.annulata*'nın sporoblastları saptanmıştır (1, 24).

Tropikal theileriosise karşı uygulanan *T.annulata* şizont aşısının değerlendirilmesinin IFA testi ile yapılabileceği belirtilmiştir (17, 18, 21).

Bazı araştırmacılar (2, 19, 22) sığrların aşlanması takiben IFA testi ile antikorların en erken 10-21'inci günlerde ortaya çıktığını belirtmiş, buna karşılık 30-49'uncu günler arasında pozitif sonuç alındığı da bildirilmiştir (16, 17, 19). Pipano ve Chana (19) aşılanan sığrlarda en yüksek antikor titresinin 23-45'inci günlerde, diğer araştırmacılar ise (2, 22) 45'inci günden sonra ortaya çıktığını ve en yüksek titrenin 1:640-1:2560 arasında olduğunu bildirmiştir.

Nalbantoğlu (16) en yüksek piroplasm antikor titresinin 1:5120, şizont antikor titresinin 1:2560 olduğunu saptamıştır.

Attenue *T.annulata* şizont aşısı bu güne kadar Türkiye'nin değişik iklim bölgelerinde 400.000 dozdan fazla kullanılmıştır. Nalbantoğlu (16) 58 sığra attenué 10^7 *T.annulata* şizont aşısı uygulamış ve bu sığrları bir yıl boyunca takip ederek titre tespiti yapmıştır.

Bu çalışma, sığrlarda *T.annulata* şizont aşısına karşı şekillenen antikorların titresini ve süresini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERIAL VE METOT

Bu araştırma, 1995 yılı şubat ayından, 1996 yılı Mart ayına kadar Elazığ yöresinde sığrlar üzerinde yürütülmüştür. Başlangıçta değişik yaşılda ve ırklarda 120 sığırın IFA testi ile serolojik yoklamaları ve mikroskopik muayeneleri yapılmıştır. Negatif 55 sığır seçilerek iki çalışma grubu oluşturulmuştur. Her iki grupta bulunan hayvanlar 0-1, 1-2 ve 2 yaş üstü gruplara ayrılmıştır. 0-1 yaş grubunda 11, 1-2 yaş grubunda 6, 2 yaş üstü grupta 23 olmak üzere toplam 40 baş sığra attenué 10^7 *T.annulata* şizont aşısı uygulanmıştır. Yine 0-1 yaş grubunda 5, 1-2 yaş grubunda 6 ve 2 yaş üstü grupta 4 olmak üzere toplam 15 baş sığır kontrol grubu olarak belirlenmiştir.

Bu sığrlardan 13 ay süreyle ayda bir defa olmak üzere her ay kan örnekleri alınmış ve böylece 715 serum toplanarak değerlendirilmiştir. Araştırma saha ve laboratuvara yürütülmüştür.

Saha Çalışmaları : Belirlenen odaklılara her gidişte, önceden tespit edilmiş ve kulak numarası verilmiş sığrlardan steril heparinsiz vakumlu tüplere 10'ar cc kan alınmış, kan örneği alınan sığrlardan perifer kan frotisi

hazırlanmış ve bu sıgırlar ile barınakları kene enfestasyonu yönünden muayene edilmiştir.

Laboratuvar Çalışmaları : Ergin kenelerin stereo mikroskop altında morfolojik özellikleri incelenmiş ve *Hyalomma* soyuna bağlı türlerin tükrük bezleri çıkartılmıştır. Tükrük bezlerinden hazırlanan preparatlar methyle green pyronin boyası ile boyanmış ve enfekte asını sayıları tespit edilmiştir (30).

Hayvanların kuyruk ucundan yapılan yayma frotiler metil alkol ile beş dakika tespit edilmiştir. Tespit edilen frotiler %5 oranında distile su ile (PH: 7.2) sulandırılmış Giemsa boyasıyla 30 dakika boyanmış ve immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta (x100 büyütme) incelenmiştirlerdir. Her preparatta 200 mikroskop sahası içinde bulunan piroplasmalı eritrositler sayılmış ve bulunan sayı enfekte eritrosit sayısı (n/200) olarak değerlendirilmiştir.

Serumlar IFA testinde kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Toplanan 715 serum tekniğine uygun olarak *T.annulata* yönünden incelenmiştir (3). Bu test için gerekli olan抗原ler Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Protozooloji ve Entomoloji laboratuvarında hazırlanmıştır. Kullanılan

konjugatın (Sigma, Anti-Bovine IgG, FITC, Cat. No. F-7509) en iyi floresan veren sulandırma basamağı Schachbrett-titrasyon testi ile belirlenmiştir (3, 28).

Oranlar arasındaki farklılıklar değerlendirmek için Fisher exact testi kullanılmış ve %5 (0.05) düzeyindeki bir farklılık istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir. Bu testler Epi-Info istatistik programı vasıtası ile yapılmıştır (5).

BULGULAR

Araştırmada aşılanacak ve kontrol olarak bırakılacak hayvanların tespiti amacıyla seçilen çeşitli yaş gruplarına ait 120 sığının serolojik ve mikroskopik muayenesinde seroprevalansın 0.275, parazit prevalansının ise 0.166 olduğu saptanmıştır.

Serolojik ve mikroskopik negatif olduğu belirlenen hayvanlardan *T.annulata* şizont aşısı uygulanan 40 sığır ile aşrı yapılmadan kontrol olarak tutulan 15 sığirdan bir yıl boyunca elde edilen toplam 715 serumun IFA testi ve aynı sayıda kan frotisinin mikroskopik muayene sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Mart 1995-Mart 1996 tarihleri arasında aşılı ve kontrol grubu sıgırların IFA testi ve kan frotisi sonuçları

| Yaş grupları | | H S | S S | F S | S | P S |
|--------------|---------|-----|-----|-----|----|-----|
| 0-1 yaş | Aşılı | 11 | 143 | 143 | 10 | 1 |
| | Kontrol | 5 | 65 | 65 | 1 | 1 |
| 1-2 yaş | Aşılı | 6 | 78 | 78 | 6 | 2 |
| | Kontrol | 6 | 78 | 78 | 5 | 5 |
| 2 yaş üstü | Aşılı | 23 | 299 | 299 | 18 | 6 |
| | Kontrol | 4 | 52 | 52 | 2 | 2 |
| Toplam | Aşılı | 40 | 520 | 520 | 34 | 9 |
| | Kontrol | 15 | 195 | 195 | 8 | 8 |

H S : Hayvan sayısı, S S : Serum sayısı, F S : Froti sayısı, S : Seropozitif,

P S : Piroplasm taşıyan

Tablo 1'den anlaşılacağı gibi aşı uygulanan 40 sığirdan 34'ünün (%85) piroplasm ve şizont antijenine karşı antikor taşıdığı ve bunlardan 9 (%22.5) sığının da piroplasm taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. 0-1, 1-2 ve 2 yaş üstü grubunda sırasıyla 10, 6 ve 18 sığının seropozitif, 1, 2 ve 6 sığının da piroplasm taşıyıcısı olduğu tespit edilmiştir. Bu yaş grupları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak öneksiz bulunmuştur ($P>0.05$). Kontrol grubu 15 sığirdan 8'inin (%53.3) hem seropozitif hem de piroplasm taşıyıcısı olduğu tespit edilmiştir. Yaşı gruplarına göre seropozitiflik ve piroplasm taşıyıcılığı ise 0-1 yaş grubunda 1, 1-2 yaş grubunda 5 ve 2 yaş üstü grupta 2 sığırda görülmüştür. Bu yaş grupları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak öneksiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Aşılama sonrası bir yıl içinde seropozitiflik ve mikroskopik bakı sonuçlarının aylara göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir. Tablo 2'den anlaşılacağı gibi aşı uygulamasından 35 gün sonra (Nisan) 0-1 yaş grubunda 10 (%90.9), 1-2 yaş grubunda 6 (%100), 2 yaş üstünde 18 (%78.2) sığırda tropikal theileriosise karşı antikor oluştugu görülmüştür. seropozitiflik her 3 yaş grubunda da 6'inci aydan itibaren azalarak 0-1 yaş grubunda 7, 1-2 ve 2 yaş üstü grupta 12 ay devam etmiştir. Piroplasm formları 0-1 yaş grubunda 1, 1-2 yaş grubunda 2, 2 yaş üstünde ise 5 hayvanda belirlenmiştir. Piroplasm formları yılın her mevsiminde rastlanmıştır.

Kontrol grubu sıgırlarda bir yıl boyunca seropozitiflik ve mikroskopik muayene sonuçları Tablo

3'te verilmiştir. Buradan anlaşılacağı gibi 15 sığırдан 8'inin (%53.3) hem seropozitif hem de piroplasm taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir.

Aşılı ve kontrol grubu sığırlarda *T.annulata* piroplasm ve şizont antijenine karşı oluşan antikor titrelerinin yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 4 ve 5'te verilmiştir. Tablo 4'ten izlenebileceği gibi piroplasmı artıkorları 0-1 yaş grubunda 6 ay (nisan-cıylül), 1-2 ve 2 yaş üstü gruplarında 12 ay (nisan-mart); şizont antikorları 0-1 yaş grubunda 5 ay (mayıs-agustos), 1-2 yaş grubunda 7 ay (nisan-ekim), 2 yaş üstü grupta 8 ay (nisan-kasım) devam etmiştir. *T.annulata* piroplasm antikor titresi en düşük 1:20, en

yüksek 1:2560, şizont antikor titresi ise en düşük 1:40, en yüksek 1:2560 olarak belirlenmiştir.

Tablo 5'ten anlaşılacağı gibi kontrol grubunda ilk piroplasm antikorları mayısta, şizont antikorları ise haziran'da görülmüştür. Piroplasm antikorları her üç yaş grubunda da 12 ay devam etmiştir. Şizont antikorları ise 1-2 ve 2 yaş üstü gruplarında 12 ay devam etmiştir. Piroplasm antikor titresi, en düşük 1:20, en yüksek 1:640, şizont antikor titresi en düşük 1:40, en yüksek 1:80 olarak belirlenmiştir.

Tablo 2. Tropikal theileriosise karşı aşılanan sığırlarda, aşılama sonrası bir yıl içinde seropozitiflik ve mikroskopik bakı sonuçlarının aylara göre dağılımı

| | | Mart | Nisan | Mayıs | Haziran | Temmuz | Ağustos | Eylül | Ekim | Kasım | Aralık | Ocak | Şubat | Mart |
|------------|------|-------|-------|-------|---------|--------|---------|-------|-------|-------|--------|------|-------|------|
| 0-1 yaş | Ser. | 0/11* | 10/11 | 10/11 | 9/11 | 9/11 | 9/11 | 1/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 |
| | Mik. | 0/11° | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 |
| 1-2 yaş | Ser. | 0/6 | 6/6 | 6/6 | 6/6 | 5/6 | 5/6 | 4/6 | 4/6 | 3/6 | 2/6 | 2/6 | 1/6 | 1/6 |
| | Mik. | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 2/6 | 2/6 | 2/6 | 2/6 | 2/6 | 2/6 | 1/6 | 1/6 | 1/6 |
| 2 yaş üstü | Ser. | 0/23 | 18/23 | 18/23 | 19/23 | 19/23 | 19/23 | 14/23 | 13/23 | 8/23 | 6/23 | 4/23 | 4/23 | 4/23 |
| | Mik. | 0/23 | 2/23 | 2/23 | 3/23 | 4/23 | 4/23 | 5/23 | 5/23 | 5/23 | 3/23 | 3/23 | 2/23 | 2/23 |
| Toplam | Ser. | 0/40 | 34/40 | 34/40 | 34/40 | 33/40 | 33/40 | 19/40 | 17/40 | 11/40 | 8/40 | 6/40 | 5/40 | 5/40 |
| | Mik. | 0/40 | 2/40 | 2/40 | 3/40 | 7/40 | 6/40 | 7/40 | 7/40 | 7/40 | 5/40 | 4/40 | 3/40 | 3/40 |

* x/y : Antikor bulunan hayvan sayısı, muayene edilen hayvan sayısı; ° x/y : Piroplasm taşıyan hayvan sayısı, muayene edilen hayvan sayısı

Tablo 3. Kontrol grubu sığırlarda bir yıl boyunca seropozitiflik ve mikroskopik bakı sonuçlarının aylara göre dağılımı

| | | Mart | Nisan | Mayıs | Haziran | Temmuz | Ağustos | Eylül | Ekim | Kasım | Aralık | Ocak | Şubat | Mart |
|------------|------|------|-------|-------|---------|--------|---------|-------|------|-------|--------|------|-------|------|
| 0-1 yaş | Ser. | 0/5* | 0/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 |
| | Mik. | 0/5° | 0/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 | 1/5 |
| 1-2 yaş | Ser. | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 3/6 | 4/6 | 5/6 | 5/6 | 5/6 | 5/6 | 5/6 | 5/6 | 3/6 | 2/6 |
| | Mik. | 0/6 | 0/6 | 0/6 | 2/6 | 4/6 | 5/6 | 5/6 | 5/6 | 5/6 | 5/6 | 5/6 | 3/6 | 2/6 |
| 2 yaş üstü | Ser. | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 |
| | Mik. | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 | 2/4 |
| Toplam | Ser. | 0/15 | 0/15 | 1/15 | 6/15 | 7/15 | 8/15 | 8/15 | 8/15 | 8/15 | 8/15 | 8/15 | 6/15 | 5/15 |
| | Mik. | 0/15 | 0/15 | 1/15 | 5/15 | 7/15 | 8/15 | 8/15 | 8/15 | 8/15 | 8/15 | 8/15 | 6/15 | 5/15 |

• x/y : Antikor bulunan hayvan sayısı, muayene edilen hayvan sayısı; ° x/y : Piroplasm taşıyan hayvan sayısı, muayene edilen hayvan sayısı

Tablo 4. Tropikal theileriosise karşı aşılanan hayvanlarda, IFA testi ile belirlenen en yüksek ve en düşük *T.annulata* piroplasm ve şizont antikor titrelerinin aylara göre dağılımı

| | | Mart | Nisan | Mayıs | Haziran | Temmuz | Ağustos | Eylül | Ekim | Kışım | Aralık | Ocak | Şubat | Mart |
|------------|---|------|---------|---------|---------|--------|---------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
| 0-1 yaş | P | 0 | 1:2560< | 1:640< | 1:640< | 1:160< | 1:40< | 1:20< | | | | | | |
| | | | 1:40> | 1:40> | 1:40> | 1:40> | | | | | | | | |
| | § | 0 | 1:640< | 1:640< | 1:640< | 1:80< | 1:40< | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1-2 yaş | P | 0 | 1:2560< | 1:640< | 1:640< | 1:320< | 1:160< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:20< | 1:20< |
| | | | 1:160> | 1:40> | 1:40> | 1:40> | 1:40> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> |
| | § | 0 | 1:640< | 1:640< | 1:640< | 1:80< | 1:80< | 1:40< | 1:40< | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | | 1:40> | 1:80> | 1:40> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> |
| 2 yaş üstü | P | 0 | 1:2560< | 1:640< | 1:640< | 1:640< | 1:80< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:40< |
| | | | 1:80> | 1:40> | 1:40> | 1:40> | 1:40> | 1:40> | 1:40> | | | | | |
| | § | 0 | 1:2560< | 1:2560< | 1:640< | 1:160< | 1:80< | 1:80< | 1:80< | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

P: Piroplasm, §: şizont, 0 : Seronegatif

Tabelo 5. Kontrol grubu hayvanlarda, IFA testi ile belirlenen en yüksek ve en düşük T.annulata piroplasm ve şizont antikor titrelerinin aylara göre dağılımı

| | | Mart | Nisan | Mayıs | Haziran | Temmuz | Ağustos | Eylül | Ekim | Kışım | Aralık | Ocak | Şubat | Mart |
|------------|---|------|-------|--------|---------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 0-1 yaş | P | 0 | 0 | 1:640< | 1:640< | 1:80< | 1:80< | 1:40< | 1:40< | 1:20< | 1:20< | 1:20< | 1:20< | 1:20< |
| | § | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1:80< | 1:40< | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1-2 yaş | P | 0 | 0 | 0 | 1:640< | 1:320< | 1:320< | 1:320< | 1:320< | 1:320< | 1:320< | 1:320< | 1:640< | 1:640< |
| | | | | | 1:80> | 1:80> | 1:40> | 1:40> | 1:40> | 1:40> | 1:20> | 1:20> | 1:20> | 1:20> |
| | § | 0 | 0 | 0 | 1:80< | 1:80< | 1:80< | 1:80< | 1:80< | 1:80< | 1:80< | 1:80< | 1:80< | 1:80< |
| 2 yaş üstü | P | 0 | 0 | 0 | 1:640< | 1:320< | 1:320< | 1:320< | 1:320< | 1:160< | 1:80> | | 1:40> | 1:40> |
| | § | 0 | 0 | 0 | 1:80< | 1:80< | 1:80< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:40< | 1:40< |

P: Piroplasm, §: şizont, 0 : Seronegatif

Araştırma süresince **Hyalomma** soyuna bağlı sigirlarda **H.a.anatolicum** ve **H.detritum**, hayvan

barnaklarında ise sadece **H.a.anatolicum** bulunmuştur. Toplanan **Hyalomma** türlerinden 212 **H.a.anatolicum** ile

16 H.detritum'un tükürük bezleri

cıkartılmak suretiyle *T.annulata* enfeksiyonu yönünden muayene edilmiş ve bu türlerdeki enfeksiyon oranları ile enfekte asını miktarları Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. *Hyalomma* türlerindeki *T.annulata* enfeksiyon oranları ve enfekte asını miktarları.

| <i>Hyalomma</i> türü | | A.K. | E.K. | % | E.O. | E.S. |
|----------------------|---|------|------|-------|-------|------|
| <i>H.anatomicum</i> | E | 82 | 15 | 18.29 | 8.40 | 27 |
| | D | 130 | 8 | 6.15 | 10.50 | 28 |
| | T | 212 | 23 | 10.84 | 8.69 | - |
| <i>H.detritum</i> | E | 6 | 1 | 16.66 | - | 84 |
| | D | 10 | - | - | - | -- |
| | T | 16 | 1 | 6.25 | 84 | |

A.K. : Açılan kene sayısı, E.K. : Enfekte kene sayısı, E.O. : Enfekte asını ortalaması, E.S. : En yüksek enfekte asını sayısı, E. : Erkek, D. : Dişi, T. : Toplam.

Buradan izlenebileceği gibi *H.a.anatomicum*'ların %10.84'ü, *H.detritum*'ların %6.25'i enfekte bulunmuştur. *H.a.anatomicum*'un erkeklerinin %18.29'u ve dişilerinin %6.15'i enfekte bulunmuş; ortalama ve enyüksek enfekte asını sayılarının erkeklerde 8.40 ve 27, dişilerde ise 10.50 ve 28 olduğu ortaya çıkmıştır. Bir adet enfekte *H.detritum*'daki enfekte asını sayısı 84 olarak belirlenmiştir.

Enfekte kene tespit edilen aşılı üç sığır ile kontrol grubu bir sığırda araştırma süresi sonuna kadar *T.annulata* şizont ve piroplasm antikorlarının devam ettiği belirlenmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Tropikal theileriosiste özellikle latent enfeksiyonların saptanmasında serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır (6, 7, 14). Bunlardan IFA testinin diğerlerine göre daha hassas ve kolay olması, toplanan çok sayıda serumun 3-4 saat gibi kısa bir süre içinde işlenmesi gibi avantajları vardır (6). Bu nedenle çalışmamızda IFA testi kullanılmıştır.

Çin'de yapılan epidemiyolojik çalışmada ülkenin bir çok yerı epidemik salı olarak belirlenmiş olup, *T.annulata* enfeksiyonunun insidensinin yerli sığırlarda %11.9, ithal sığırlarda %61 olduğu tespit edilmiştir (31). Bu çalışmada kontrol grubunda elde ettiğimiz %53'lük insidens oranı Çin'de elde edilen sonuç (31) ile benzerlik arzettmektedir.

Fas'ın Doukkala bölgesinde hastalık mevsiminin

den önce *T.annulata*'nın piroplasm prevalansı %48.5 bulunmuş ve yaşlı hayvanların gençlere oranla daha fazla piroplasm taşıyıcısı oldukları belirtilmiştir (12). Hindistan'da kan frotillerinin mikroskopik bakısında %14.94, serolojik yoklamalarda ise %30-60 oranında pozitiflik tespit edilmiştir (26, 27). Bizim çalışmamızda hastalık mevsiminden önce elde ettiğimiz %16.6'lık *T.annulata*'nın piroplasm prevalansı Hindistan'da (27) elde edilen prevalansla benzerlik arzettmektedir. Fas'ın Doukkala bölgesinde (24) elde edilenden ise daha düşütür. Yine bu çalışmada elde edilen %27.5'lük seroprevalansın Hindistan'da (27) elde edilenden daha düşük olduğu görülmüştür.

Kan frotillerinin mikroskopik bakısına göre *T.annulata* enfeksiyonunun Türkiye'nin değişik bölgelerinde %9.3-%43.2 arasında değişen oranlarda yaygınlık gösterdiği bildirilmiştir (9, 11, 13, 15, 16, 29). Elazığ yöresinde yapılan bu çalışmada enfeksiyonun yayılışı %16.6 olarak belirlenmiştir.

Türkiye'de tropikal theileriosisin teşhisini son yıllarda serolojik yöntemlerle yapılmaktadır. IFA testi ile Ankara, Adana, Elazığ, Bursa illeri ve Ege, Karadeniz, İç Anadolu, Marmara ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde sırasıyla %6.4, %10.7 %41, %10, %40, %46.8, %29, %33.3 ve %91.4 arasında seropozitiflik elde edilmiştir (3, 4, 10, 23). Bu çalışmada hastalık mevsiminden önce 120 sığırın IFA testi ile ilk yoklamasından sonra %27.5 oranında bir seropozitiflik saptanmıştır.

Aynı yöntemle *T.annulata*'nın yıllık prevalansının belirlenmesi amacıyla Ankara'da yapılan çalışmalarda 1990 yılında %31.7, 1991 yılında %19, Samsun'da %63,

Adana'da %16 oranında seropozitiflik belirlenmiştir (8, 16, 25). Elazığ bölgesinde yapılan bu çalışmada kontrol grubu sığrlarda yıllık seroprevalans %53.3 olarak saptanmış olup, bu sonuç ile diğer araştırma sonuçları arasındaki farklılığın, araştırmaların ayrı bölgelerde ve değişik yıllarda yapılmış olmasından kaynaklandığı kanaatine varılmıştır.

Raghav ve arkadaşları (22), Hindistan'da aşısı uygulanan sığrlarda, IFA testi ile antikorların 21'inci günde yükselmeye başladığını, 45'inci günde 1:640-1:2560 veya 1:10240'ta en yüksek seviyeye eriştiğini, 45-90'inci günlerde 1:640-1:2560'ta olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı ülkede yapılan başka bir çalışmada (2) buzağılarda antikorların 21'inci günde belirlendiği, 45'inci günde en yüksek seviyeye çıktıığı ve en yüksek titrenin 1:640 - 1:2560 arasında olduğu saptanmıştır. Özkoç ve Pipano (17) *T.annulata* şizont aşısı uygulanan buzağılarda, antikorların 35 ile 49'uncu günlerde ortaya çıktığini belirtmişlerdir. Pipano ve Cahana (19) aşısı inokulasyonu yapılan 9 danadan ikisinde 10'uncu, üçünde 12'inci, birinde 13'üncü, ikisinde 15'inci ve birinde 18'inci günde antikorların görüldüğünü, 23-45'inci günlerde titrenin yükseldiğini ve en yüksek titrenin 32-52'inci günlerde görüldüğünü, kontrol grubunda antikorların çelinç inokulasyonundan sonra 13-18'inci günler arasında görüldüğünü ve 23-45'inci günlerde en yüksek noktaya ulaştığını belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar yaptıkları başka bir çalışmada (20) 39-48'inci günlerde değişik titrelerde pozitif sonuçlar elde etmişler ve aşılanan danaların hiç birinde klinik ve parazitolojik belirtilere rastlamamışlardır. Nalbantoğlu (16) aşısı uyguladığı sığrlarda 30 gün sonra IFA testi ile pozitif sonuçlar almıştır. En yüksek piroplasm antikor titresini 1:5120, şizont antikor titresini ise 1:2560 olarak elde etmiştir.

Bu çalışmada aşısı uygulamasından 35 gün sonra IFA testi ile pozitif sonuçlar alınmıştır. Bu sonuç birçok araştırmacının (2, 16, 17, 19, 20, 22) aşısı uygulamasından sonra antikorları tespit ettikleri süre ile benzerlik göstermektedir. Yine bu çalışmada piroplasm ve şizont antikoru en yüksek 1:2560 titrede saptanmıştır. Bu sonuç bazı araştırmacıların (2, 22) sonuçları ile benzerdir. Nalbantoğlu'nun (16) şizont antikor titresi sonucu ile aynı, piroplasm antikor titresi sonucundan daha düşüktür.

Hindistan'da aşısı uygulanan sığrlarda antikor titresinin, aşılamadan 6 ay sonra düşmeye başladığı, 12'inci ayda aşılamadan önceki titreden daha yüksek olduğu belirtilmiştir (22). Türkiye'de Nalbantoğlu (16) aşısı uyguladığı sığrlarda seropozitifliğin 0-1 yaş gru-

bunda 4'üncü ayda eksilerek 12 ay, 1-2 yaş grubunda 3'üncü ayda eksilerek 7 ay ve 2 yaş üstü grupta 3'üncü ayda eksilerek 4 ay devam ettiğini bildirmiştir.

Elazığ yöresinde yapılan bu çalışmada seropozitiflik 0-1, 1-2 ve 2 yaş üstü olmak üzere her üç yaş grubunda da 6'inci aydan itibaren azalarak 0-1 yaş grubunda 7, 1-2 ve 2 yaş üstü grupta 12 ay devam etmiştir. Elde edilen bu sonuçlar Hindistan'da yapılan çalışmada (22) elde edilen sonuçlara benzer olup, Nalbantoğlu'nunkinden (16) daha uzundur. Aşılamadan sonra seropozitifliğin uzun süre devam etmesi, hayvanların sahada enfekte kene ile karşılaşmalarına bağlı olduğu şeklinde yorumlanabilir. Zira bu çalışmada aşılanan sığrlar üzerinde enfekte *Hyalomma*'lar tespit edilmiştir.

Türkiye'de aşının bir yıllık seyrinin izlenmesi ve titre tespiti konusunda yeterli çalışma yapılmamıştır. Bu konuda Nalbantoğlu tarafından yapılan çalışmada (16), 58 sığra attenue 10⁷ *T.annulata* şizont aşısı uygulanmış ve bu sığrlar bir yıl boyunca takip edilerek titre tespiti yapılmıştır. Şizont aşısı uygulanan 58 sığirden 45'inin (%77.5) *T.annulata* piroplasm ve şizont antijenine karşı 4-12 ay süreyle antikor taşıdığını, altı (%10.3) sığının da piroplasm taşıyıcısı olduğu saptanmıştır (16). Elazığ yöresinde yapılan bu çalışmada, tropikal theileriosise karşı attenue 10⁷ *T.annulata* şizont aşısı uygulanan hayvanlar bir yıl süre ile izlenmiş, 40 sığirden 34'ünün (%85) *T.annulata* piroplasm ve şizont antijenine karşı 6-12 ay süreyle antikor taşıdığını ve 9 (%22.5) sığırda piroplasm taşıyıcısı olduğu saptanmıştır. Gerek antikor taşıyan sığır oranı ve gerekse piroplasm taşıyıcılarının miktarı, Adana yöresinde yapılan çalışmada (16) elde edilen sonuçlara göre daha yüksek bulunmuştur. Adana yöresinde aşılanan sığrlarda, vektör kene türlerine rastlanmaması, buna karşılık bu çalışmada *Hyalomma* soyuna bağlı *H.a.anatomicum* ve *H.detritum*'un tespit edilmiş olması ve bu kenelerde enfeksiyon saptanması ile aşının sahaya intikali ve uygulama esnasındaki şartların elde edilen yüksek antikor taşıma oranı ve bu antikorların devam etme süresi ile ilişkili olduğu kanaatini doğurmus-tur.

Türkiye'de *Hyalomma* türlerinin *T.annulata* ile enfekte olup olmadıklarını araştırmak amacıyla çalışmalar yapılmıştır (1, 24). Sayın ve arkadaşları (24) Ankara yöresinde sığrlar üzerinden ve barınaklardan topladığı *H.a.anatomicum*, *H.detritum* ve *H.excavatum*'da sırasıyla %24.63, %40 ve %18.18 oranında enfeksiyon tespit etmişlerdir. Angın (1) Elazığ yöresinde hayvan barınaklarından toplanan *H.a.anatomicum*'ların %53.74, sığrlar üzerinden toplanan *H.a.anatomicum*'ların %22.56 ve *H.detritum*'ların %46.65'inin enfekte olduğunu.

üzerinden toplanan *H.a.anatolicum*'ların %22.56 ve *H.detritum*'ların %4.65'inin enfekte olduğunu, *H.a.excavatum*'un hiç birinde enfeksiyona rastlamadığını belirtmiştir. Bu çalışmada da hem sığırlar üzerinden ve hem de barmaklardan toplamak suretiyle tükürük bezı açılan toplam 212 *H.a.anatolicum*'un 23'ü (%10.84) ve 16 *H.detritum*'un biri (%6.25) enfekte bulunmuştur. Gerek Ankara yöresinde (24) gerekse bu yörede daha önce yapılan çalışmada (1) tespit edilen yüksek enfeksiyon oranlarının, çalışmalarla incelenen kene sayısındaki farklılıktan kaynaklandığı kanaatine varılmıştır.

Sonuç olarak;

1. Theileriosise karşı aşılanan sığırlarda tespit edilen 6-12 aylık antikor taşıma süresi göz önünde bulundurulacak olursa, Elazığ yöresinde sığırların yılda en az bir kere aşılanması gerektiği,
 2. Elazığ yöresi sığırlarında ve hayvan barınaklarında bulunan kene türlerinden *H.a.anatolicum* ve *H.detritum*'un *T.annulata* enfeksiyonunu taşıdığı,
 3. Üzerinde enfekte kene tespit edilen hayvanlarda antikor taşıma süresinin daha uzun olduğu bu çalışma ile ortaya konmuştur.
-
- ## KAYNAKLAR
1. Angm, M. Elazığ Yoresi Sığırlarında *Theileria annulata*'nın Vektörleri. Dok. Tez. Fırat Üniversitesi Sağ.Bil.Ens. Elazığ 1996.
 2. Anon. Annual Report. Animal Disease Research Laboratory National Dairy Development Board, Anand. India 1988-1989.
 3. Çakmak, A. Ankara Yoresinde Bir Sığır Sürüsünde Hemoparazitlerin İnsidensinin araştırılması. Fac. Vet. Med. Univ. Ankara 1990; 37 (3) 632-645.
 4. Çakmak, A ve Öz, İ. Adana Yoresi Sığırlarında Kan Protozoonlarının Serodiagnostik. A.U. Vet. Fak. Derg. 1993; 40, 1:70-77.
 5. Dean, A.G., Dean, J.A., Coulombier, D., Brendel,K.A., Smith,D.C., Burton, A.H., Dicker, R.C., Sullivan, K.M., Fagan, R.F. and Arner, T.G. Epi-Info, Version 6 : A Word Processing, Database, and Statistics Program for Epidemiology on Microcomputers. Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, U.S.A 1994.
 6. Dhar, S.and Gautam, O.P. Indirect Fluorescent Antibody test for Serodiagnosis in Cattle Infected with *Theileria annulata*. Indian J. Anim. Sci. 1997; 47, 11:720-723.
 7. Dhar, S. and Gautam, O.P. Species Differentiation of *Theileria* of Cattle by Means of Complement-Fixation test. Indian Vet. J. 1977; 54:21-24.
 8. Dinçer, Ş., Sayın, F., Karaer, Z., Çakmak, A., Friedhoff, K.T., Müller, I., İnci, A., Yukarı, B.A. ve Eren, H. Karadeniz Bölgesi Sığırlarında Bulunan Kan Parazitlerinin Sero-İnsidensi Üzerine Araştırmalar. Ankara Univ. Vet. Fak. Derg. 1991; 38, 1-2:206-226.
 9. Dumanlı, N. ve Özer, E. Elazığ Yoresinde Sığırlarda Görülen Kan Parazitleri ve Yayılışları Üzerinde Araştırmalar. S. Ü. Vet. Fak. Derg. 1987; 3, 1, 159-166.
 10. Eren, H., Çakmak, A. ve Yukarı, B.A. Türkiye'nin Farklı Coğrafi Bölgelerinde *Theileria annulata*'nın Sero-Prevalansı. Ankara Univ. Vet. Fak. Derg. 1995; 42, 1. (Basmada).
 11. Erkut, H.M. Ege Bölgesinde Sığırlarda Piroplasmosis Durumu ve Tedavide Yeni İlaçlamalar. Bornova Vet. Araş. Enst. Derg. 1967; 8, 16:120-130.
 12. Flach, E.J., and Ouhelli, H. The Epidemiology of Tropical Theileriosis (*Theileria annulata*) in An Endemic Area of Morocco. Vet. Parasitol. 1992; 44, 51-65.
 13. Göksu, K. Ankara ve Çivarı Sığırlarında Theileriosis Üzerinde Sistematiske Araştırmalar. Tez, Ankara Univ. Vet. Fak. Yay. No: 115/60, Yeni Matbaa, Ankara 1959.
 14. Kachani, M., Flach, E., Williamson, S., McDonald, F., Shiels, B., Spooner, R. L., and Ouhelli, H. The Use of ELISA in Theileriosis Studies in Morocco. Editors.R.Spooner, J.Campbell. European Union third Coordination Meeting on Tropical Theileriosis. Antalya, Turkey 1994; 49-51.
 15. Mimioğlu, M. Samsun, Ordu, Giresun ve Bolu Vilayetlerinde 'Haematuria Vesicalis Bovis'lı Sığırlarda Parazitolojik Araştırmalar. Ankara Univ. Vet. Fak. Derg 1955, 1-2:183-192.
 16. Nalbantoglu, S. Çukurova Yoresinde Tropikal theileriosise Karşı Aşılanan Sığırlarda Saha Çalışmaları. Dok. Tez. Ankara Üniversitesi Sağ.Bil.Ens.. Ankara 1996.
 17. Özkoç, Ü and Pipano, E. Trials with Cell Culture Vaccine Against Theileriosis in Turkey. Editors.

- A.D.Irvin, M.P.Cunningham, A.S.Young. Advances in the Control of Theileriosis. Martinus Nijhoff, The Hague. London 1981; 256-258.
18. Pipano, E. Schizont and Tick Stages in Immunization Against *Theileria annulata* Infection. Editors. A.D.Irvin, M.P.Cunningham, A.S.Young. Advances in the Control of Theileriosis. Martinus Nijhoff, The Hague. London 1981; 242-252.
 19. Pipano, E. and Cahana, M. Measurement of the Immune Response to Vaccine from Tissue Cultures of *Theileria annulata* by the Fluorescent Antibody Test. J. Protozool. 1968; 15, Suppl. 45.
 20. Pipano, E. and Cahana, M. A Serological Method for Assessing the Response to *Theileria annulata* Immunization. Refuah Vet. 1969; 26:148-145.
 21. Pipano, E. and Israel, V. Absence of Erythrocyte from of *T.annulata* in Calves Inoculated with Schizonts from a Virulent Field Strain Grown in Tissue Culture. J. Protozool. 1971; 37. Suppl. 18.
 22. Raghav, P.R.S., Thakur, M., Varshney, B.C. and Singh, D.K. Antibody Titres in Dairy Animals Vaccinated With Schizontal Tissue Culture Theileriosis Vaccine. Editors. D.K. Singh, B.C. Varshney. Orientation and Coordination of Research on Tropical Theileriosis. Anand. India 1991; 39-44.
 23. Sayın, F., Dinçer, Ş., Dumanlı, N., Karaer, Z., Çakmak, A., İnci, A., Yukarı, B.A., Eren, H., Beyazıt, A., Spooner, R.L., and Brown, C.G.D. Epidemiology of Tropical Theileriosis in Turkey. Editors. R.Spooner, J.Campbell. European Union Third Coordination Meeting on Tropical Theileriosis, Antalya. Turkey1994; 1-2.
 24. Sayın, F., Dinçer, Ş., Karaer, Z., Çakmak, A., İnci, A., Yukarı, B.A., Eren, H. Epidemiological Study on Tropical Theileriosis Around Ankara. Second EEC Meet on Orientation and Coordination of Research on Tropical Theileriosis. National Dairy Development 18-22 March. Board, Anand. India 1991.
 25. Sayın, F., Dinçer, Ş., Karaer, Z., Çakmak, A., İnci, A., Yukarı, B.A., Eren, H. and Brown, C.G.D. Epidemiological Study on Tropical Theileriosis Around Ankara. Veteriner Hekimliği Öğreniminin 150. Yılı. Ankara. Türkiye 1992; 263-278.
 26. Sharma, R.D. Tropikal theileriosis. Orientation and Coordination of Research on Tropikal Theileriosis. (Report of EEC- sponsored workshop) 1986; 27-28.
 27. Singh, D.K. Theileriosis in India. Editors. D.K. Singh, B.C. Varshney. Orientation ond Coordination of Research on Tropikal Theileriosis. Anand. India 1991; 23-28.
 28. Storch, W. Immunfluoreszenfibel. 1. Auflage, Jena. VEB Gustav, Fisher Verlag. 1979; 17-43.
 29. Tüzer, E. İstanbul İli ve Çevresinde Sığırılarda Görülen Babesia, Theileria ve Anaplasma Türleri ve Bunlardan Oluşan Enfeksiyonların Yayılışı Üzerinde Araştırma. İ.U. Vet.Fak.Derg. 1982; 8, 1, 97,110.
 30. Walker, A.R., Mckellar, B., Bell,L.J. and Brown, C.G.D. Rapid Quantitative Assessment of *Theileria* Infection in Ticks. Trop. Anim. Helth. Prod. 1979; 11, 21-26.
 31. Wenshun, L. and Hong, Y. Bovine and Ovine Theileriosis in China and Its Immune Prophlaxis. Editors. R.spooner, J.Campbell. Europen Union third Coordination Meeting on Tropical Theileriosis. Antalya. Turkey 1994; 13-17.