

Aydın İli Sığırlarında Tropikal Theileriosisin Yaygınlığı ve *Theileria annulata* Şizont Aşısının Sahada Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Nuran AYSUL, Tülin KARAGENÇ, Hasan EREN, Süleyman AYPAK, Serkan BAKIRCI

Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

ÖZET: Bu çalışma, tropikal theileriosisin Aydın ilindeki yaygınlığının belirlenmesi ve *Theileria annulata* atenüye şizont aşısı ile aşılanan sığırlarda hastalık sezonu ve sonrasında oluşan bağışıklığın indirekt floresan antikor (IFA) testi ile değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır. Aydın yöresinde (Çine, İncirliova, Nazilli, Merkez) hastalık sezonundan önce (Mart) IFA testi ile seronegatif olan toplam 466 sığırdan 236'sı aşılanmış, 230'i ise kontrol grubu olarak bırakılmıştır. Aşılamaı takiben tüm sığırlardan dört kez (Nisan, Haziran, Eylül, Aralık) kan alınarak mikroskopik ve serolojik olarak incelenmiştir. Bölgelere göre mikroskopik ve serolojik olarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Hastalık sezonunda toplam 22 (10 aşı, 12 aşısız) hayvanda klinik olarak theileriosis tespit edilmiştir

Anahtar Sözcükler: *Theileria annulata*, IFAT, aşı, epidemiyoloji

Prevalence of Tropical Theileriosis in Cattle in the Aydın Region and Determination of Efficacy of Attenuated *Theileria annulata* Vaccine

SUMMARY: The present study was carried out to find out the prevalence of tropical theileriosis in the Aydın region and to determine immune status of cattle vaccinated with *Theileria annulata* schizont vaccine using the indirect fluorescence antibody test (IFAT) during and after the disease season. A total of 236 out of 466 cattle found to be seronegative with IFAT were vaccinated in the Aydın region (Cine, İncirliova, Nazilli, and Centrum) before the disease season (March). The remaining cattle (230/466) served as controls. Blood samples were collected from all cattle following the vaccination once in each month of April, June, September, and December (a total of 4 times) to determine the incidence of the disease using microscopic and serologic evaluations. Results indicated that the incidence of the disease varied among the regions. Clinical theileriosis was found in a total of 22 cattle (10 vaccinated, 12 unvaccinated) during the disease season.

Key Words: *Theileria annulata*, IFAT, vaccine, epidemiology

GİRİŞ

Tropikal theileriosis sığırlarda *Theileria (T.) annulata*'nın neden olduğu yaygın ve önemli bir hastalıktır. *Hyalomma* cinsindeki keneler ile nakledilen hastalık özellikle ithal ırk sığırlarda ve bunların melezlerinde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (7). Yapılan mikroskopik, serolojik ve moleküler çalışmalarda hastalığın Türkiye'nin her bölgesinde yaygın olduğu bildirilmiştir (2, 10, 11, 31).

Hastalığa karşı çeşitli kontrol metotları uygulanmaktadır. Bunlar vektör kene ile mücadele, kemoterapi ve aşılamaıdır. Vektör kene mücadelesinde kullanılan akarisitlerin pahalı olması, ilaçların sığırlarda et ve süte geçmesi, çevreyi kirletmesi ve uzun süre kullanılmalarına bağlı olarak bunlara karşı bağışıklık

lık gelişmesi hastalıkla mücadelede karşılaşılan sorunlardan bazılarıdır (26, 35). Yine aşılamanın olmadığı pek çok ülkede hastalığa karşı tedavi kemoterapi (Parvaquone, Buparvaquone) ile yapılmaktadır. Ancak ilaçla tedavi çok pahalı olup erken dönemde başlanılmadığında iyi sonuç vermemektedir (7, 22). Tropikal theileriosis karşı makroşizont ile enfekte hücre kültürü (canlı-atenüye) kullanılarak aşılama korunmada önemli bir yer tutmaktadır. Canlı atenüye aşılar Türkiye de dahil pek çok ülkede kullanılmaktadır (30, 32, 34, 40, 41). Türkiye'de Tarım Bakanlığı Pendik Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü tarafından üretilen atenüye *T. annulata* şizont aşısı (*T. annulata* Ankara stok) 1982 yılından itibaren sahada uygulanmaktadır (27, 28, 33). Aşı üretimi 1992'ye kadar yıllık 150 bin doz iken 2000 yılından sonra azalarak yıllık ortalama 20.000 bin doza kadar düşmüştür (20). Ayrıca son yıllarda bazı özel laboratuvarlarda da yılda yaklaşık 60.000 doz aşı üretilmektedir. Ancak Türkiye'de yaklaşık olarak 11 milyon sığır bulunmakta ve bunların %61,4'ünü kültür ırkı ve bunların melezleri oluşturduğu düşünülürse üretilen aşı dozunun risk altındaki hayvanların ihtiyacını karşılayacak düzeyde olmadığı görülmektedir (36).

Makale türü/Article type: **Araştırma / Original Research**

Geliş tarihi/Submission date: 13 Haziran/13 June 2008

Düzeltilme tarihi/Revision date: 14 Temmuz/14 July 2008

Kabul tarihi/Accepted date: 16 Temmuz/16 July 2008

Yazışma /Corresponding Author: Tülin Karagenc

Tel: - Fax: -

E-mail: tkaragenc@adu.edu.tr

Theileria annulata'ya karşı uygulanan kontrol programının başarılı olup olmadığını belirleyebilmek için, hayvana aşının uygun bir şekilde verilip verilmediğinin araştırılması ve aşılanan hayvanların ikinci enfeksiyona karşı immunitelerinin belirlenmesi gerekmektedir. Aşının etkili olup olmadığını belirlemenin bir yolu da aşılama sonrası hayvanlarda parazite karşı antikorların gelişip gelişmediğinin ortaya konmasıdır. Günümüzde hem makroşizont hem de piroplasm antijenlerinin kullanıldığı indirekt floresan antikor testi (IFAT) hem doğal olarak enfekte olan hayvanlarda hem de aşılama sonrası antikorların varlığını göstermek amacıyla çok sık kullanılan bir metottur (3, 29).

Bu çalışma, tropikal theileriosisin Aydın ilindeki yaygınlığının belirlenmesi ve *T. annulata* atenüye şizont aşısı ile aşılanan sığırlarda hastalık sezonu ve sonrasında oluşan bağışıklığın IFA testi ile değerlendirilmesi amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kan Örneklerinin Toplanması: Bu çalışmanın materyali Mart-Aralık 2001 tarihleri arasında Aydın iline bağlı 4 ilçedeki (Çine, İncirliova, Nazilli, Merkez) farklı yaş, ırk ve cinsiyetteki sığırlardan sağlanmıştır. Çalışmanın başında 590 sığırdan kan alınmış, mikroskopik ve serolojik yöntemlerle inceledikten sonra *T. annulata* negatif bulunan 466 sığırla çalışmaya devam edilmiştir. 236 sığır Teylovac® isimli aşı (VETAL, 10⁷ hücre/ml, Pasaj 320, Adıyaman) ile aşılanmış, 230 tanesi ise kontrol olarak bırakılmıştır. 466 adet sığırın 318 adedi dişi, 148 adedi ise erkek ve bunların 268'i kültür ırkı, 54'ü melez ve 144'ü ise yerli ırktan oluşmuştur. Sığırlar yaşlarına göre 0-1 yaş arası (n=225), 1-2 yaş arası (n=108) ve 2 yaş ve üstü (n=133) olmak üzere üç gruba ayrılmışlardır. Ancak 466 ile başlayan örnek sayısı ilerleyen dönemlerde ölüm, kesim ve satış nedenleriyle 252'ye inmiştir. Tüm sığırlardan bir kez aşılama öncesi (Mart), dört kez de aşılama sonrası (Nisan, Haziran, Eylül, Aralık) olmak üzere beş kez kan örneği alınmıştır. Kan örnekleri soğuk zincirde laboratuvara getirilmiştir.

Mikroskopik Muayene: Mikroskopik muayene amacıyla EDTA ile muamele edilmiş tüplere kan örnekleri alınmıştır. EDTA'lı tüplerden her bir hayvana ait ikişer adet ince yayma frotiler hazırlanmış, Giemsa boyası (%10 pH: 7.2) ile boyanmış ve x1000 büyütmede en az 50 mikroskopik saha gezilerek incelenmiştir. Pozitif sonuç eritrosit içindeki piroplasmın morfolojik yapısına göre belirlenmiştir.

IFA Testi: IFA testinde kullanılmak üzere steril serum tüplerine kan alınmış ve 350 x g'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarılmış ve birer ml tüplere bölünerek IFA testinde kullanılmaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. IFA testinde kullanılacak olan makroşizont antijenleri, akut theileriosis varlığından şüphe edilen hayvanlardan steril Li-heparinli tüplere alınan kan örneklerinden hücre kültürü yapılarak üretilmiş makroşizontlardan daha önce tarif edildiği gibi hazırlanmıştır (15). Piroplasm antijenleri ise parazitemisi yaklaşık %35 veya fazla olan hayvanlardan alınan 5 ml EDTA'lı kan örneklerin-

den daha önce tarif edildiği gibi hazırlanmıştır (8). Antijen preparatları kullanılmaya kadar silika jel bulunan poşetlerde -20 °C'de saklanmıştır. Toplanan serum örnekleri 1/160 oranında fosfat tampon solüsyonu ile sulandırılıp (17) makroşizont ve piroplasm antijenleri kullanılarak IFAT ile daha önce tarif edildiği şekilde (8, 29) incelenmiştir.

Kene Örneklerinin Toplanması: Bunların dışında kan örnekleri alınan sığırların bulunduğu ahırların duvarlarından ve hayvanların üzerinden kene örnekleri toplanmış ve bunlar tür tayini yapılmak üzere %75 alkol içerisinde saklanmıştır. Ahır duvarlarından toplanılan aç olgun kenelerden 10 erkek ve 10 dişi seçilerek incelenene kadar +18 °C'de %80 nemli ortamda bekletilmiştir. Keneler diske edilmeden önce 3 gün 37 °C'de %100 nemli ortamda inkübe edilmiştir. Daha sonra keneler diske edilerek tükrük bezleri methyl green pyronin (MGP) ile boyanmış ve *T. annulata*'nın varlığı araştırılmıştır (37).

Klinik theileriosis teşhisi konulan hayvanların aşı ve aşısız gruplarda dağılımı açısından bir farkın olup olmadığı Ki-kare (χ^2) testi, yine aşı ve aşısız hayvanların mikroskopik sonuçlarının aylara göre dağılımında farkların olup olmadığını değerlendirmek amacıyla (χ^2) testi, gerektiği yerde de Fisher'in exact testi kullanılarak belirlenmiştir.

BULGULAR

Çalışma dönemlerine ait kan frotilerinin mikroskopik olarak incelenmesinden elde edilen sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Aşılama sonrası dönemlerde *T. annulata*'nın prevalansının Çine ve Nazilli'de diğer odaklara göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 1). Kontrol gruplarındaki hayvanlar değerlendirildiğinde Aydın Merkez dışındaki odaklarda da benzer bir seyir gözlenmiştir. Aşılı ve aşısız hayvanların mikroskopik sonuçlarının aylara göre dağılımında gruplar arasındaki fark önemsiz ($P > 0,01$) bulunmuştur.

Hastalık sezonu sırasında (Haziran) çalışma grubumuza dahil hayvanlardan toplam 22 sığır [10'u aşı (Çine: 9, Nazilli: 1), 12'si aşısız (Çine: 3, Nazilli: 3, İncirliova: 6)] bölge Veteriner Hekimleri tarafından klinik theileriosis teşhisi konulmuş, bu teşhisler tarafımızdan mikroskopik teşhis ile doğrulanmış ve tedavileri uygulanmıştır. Nazilli'de klinik theileriosis semptomları gösteren biri aşı, biri aşısız olmak üzere iki sığır uygulanan tedaviye rağmen ölmüştür. Aşılı gruptaki hastalanan 10 hayvandan biri yerli dokuzu ise kültür ırkı; tamamı erkek; biri bir yaş üstü diğerleri 0-1 yaş grubunda yer almıştır. Aşısız grupta ise 12 hayvandan 7'si kültür ırkı, 3'ü yerli, 2'si melez; 5'i erkek 7'si dişi; 2'si 2 yaş üstü, 4'ü 1-2 yaş arası, 6'sı 1 yaş altı grubunda yer almıştır. Theileriosis vakalarının aşı ve aşısız hayvan grupları arasında dağılımı açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($P > 0,001$).

Saha çalışması sırasında elde edilen serumların makroşizont ve piroplasma antijenleri kullanılarak yapılan IFAT sonuçları Tablo 2 ve 3'de verilmiştir. Aşılanan hayvanlardan Nisan döneminde alınan kan örneklerinde bölgelere göre makroşizonta karşı seropozitiflik oranı %91,8 ile %100 arasında değişkenlik göstermiştir (Tablo 2). Eylül ayında ise bu

Tablo 1. Sahadan toplanan kan örneklerinin mikroskopik muayene sonuçları

Çalışma Grupları	Mart	Nisan	Haziran	Eylül	Aralık
	Aşılı Grup				
Çine	0/84	2/76 (2,6)*	20/74 (27,0)	19/67 (28,4)	11/31 (35,5)
İncirliova	0/56	0/49 (0)	1/45 (2,2)	1/44 (2,3)	1/36 (2,8)
Nazilli	0/72	1/68 (1,5)	5/62 (8,1)	5/45 (11,1)	5/40 (12,5)
Aydın Merkez	0/24	0/23 (0)	2/21 (9,5)	2/18 (11,1)	0/7 (0)
Toplam	0/236	3/216 (1,4)	28/202 (13,9)	27/174 (15,5)	17/114 (14,9)
Kontrol Grubu					
Çine	0/50	0/45 (0)	6/46 (13,0)	5/46 (10,9)	4/24 (16,7)
İncirliova	0/62	4/52 (7,7)	6/50 (12,0)	6/43 (14,0)	5/37 (13,5)
Nazilli	0/92	1/91 (1,1)	7/86 (8,1)	8/60 (13,3)	9/64 (14,1)
Aydın Merkez	0/26	0/25 (0)	1/23 (4,3)	1/20 (5,0)	1/13 (7,7)
Toplam	0/230	5/213 (2,3)	20/205 (9,8)	20/169 (11,8)	19/138 (13,8)
Genel Toplam	0/466	10/429 (1,9)	40/407 (11,8)	40/343 (13,7)	38/252 (14,3)

*: Piroplasm pozitif hayvan sayısı / Muayene edilen hayvan sayısı (% prevalans)

Tablo 2. Sahadan toplanan serum örneklerinin IFAT makroizot antijeni kullanılarak elde edilen sonuçları

Çalışma Grupları	Mart	Nisan	Haziran	Eylül	Aralık
	Aşılı Grup				
Çine	0/84	73/76 (96,1)*	59/74 (79,7)	32/67 (47,8)	12/31 (38,7)
İncirliova	0/56	45/49 (91,8)	37/45 (82,2)	4/44 (9,1)	6/36 (16,7)
Nazilli	0/72	64/68 (94,1)	38/62 (61,3)	17/45 (37,8)	6/40 (15,0)
Aydın Merkez	0/24	23/23 (100)	17/21 (81,0)	6/18 (33,3)	3/7 (42,9)
Toplam	0/236	205/216 (94,9)	151/202 (74,8)	59/174 (33,9)	27/114 (23,7)
Kontrol Grubu					
Çine	0/50	5/45 (11,1)	4/46 (8,7)	8/46 (17,4)	4/24 (16,7)
İncirliova	0/62	17/52 (32,7)	19/50 (38,0)	8/43 (18,6)	14/37 (37,8)
Nazilli	0/92	25/91 (27,5)	25/86 (29,1)	11/60 (18,3)	9/64 (14,1)
Aydın Merkez	0/26	5/25 (20,0)	2/23 (8,7)	4/20 (20,0)	2/13 (15,4)
Toplam	0/230	52/213 (24,4)	50/205 (24,4)	31/169 (18,3)	29/138 (21,0)

*: Seropozitif hayvan yüzdesi / IFAT ile bakılan hayvan sayısı (% prevalans)

Tablo 3. Sahadan toplanan serum örneklerinin IFAT piropilasm antijeni kullanılarak elde edilen sonuçları

Çalışma Grupları	Mart	Nisan	Haziran	Eylül	Aralık
	Aşılı Grup				
Çine	0/84	45/76 (59,2)*	32/74 (43,2)	22/67 (32,8)	10/31 (32,3)
İncirliova	0/56	41/49 (83,7)	22/45 (48,9)	5/44 (11,4)	6/36 (16,7)
Nazilli	0/72	26/68 (38,2)	14/62 (22,6)	15/45 (33,3)	6/40 (15,0)
Aydın Merkez	0/24	21/23 (91,3)	9/21 (42,9)	3/18 (16,7)	1/7 (14,3)
Toplam	0/236	133/216 (61,6)	77/202 (38,1)	45/174 (25,9)	23/114 (20,2)
Kontrol Grubu					
Çine	0/50	0/45 (0)	3/46 (6,5)	8/46 (17,4)	4/24 (16,7)
İncirliova	0/62	20/52 (38,5)	11/50 (22,0)	8/43 (18,6)	10/37 (27,0)
Nazilli	0/92	5/91 (5,5)	7/86 (8,1)	15/60 (25,0)	14/64 (21,9)
Aydın Merkez	0/26	4/25 (16,0)	3/23 (13,0)	2/20 (10,0)	0/13 (0)
Toplam	0/230	29/213 (13,6)	24/205 (11,7)	33/169 (19,5)	28/138 (20,3)

*: Seropozitif hayvan yüzdesi / IFAT ile bakılan hayvan sayısı (% prevalans)

oranlarda azalma meydana gelerek %9,1 ile %7,8 arasında değişmiştir. Aşısız hayvanlarda makroşizont antijenine karşı seropozitiflik Nisan ayında %24,4, hastalık sezonu sonunda yani Eylül ayında %18,3 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Seropozitif hayvan sayısında bölgeler arasında farklılıklar gözlenmiştir.

Aşılı hayvanlarda aşılama sonrası anti-piroplasma antijenine karşı gelişen pozitifliğin makroşizontlara karşı gelişen pozitiflik kadar yüksek olmadığı gözlenmiştir. Anti-piroplasma antikollarının prevalansı Nisan ayında toplam %61,6, iken Aralık ayında %20,2 oranına kadar azalma tespit edilmiştir (Tablo 3). Kontrol grubundaki hayvanlarda ise Nisan ayında anti-piroplasma seropozitifliği prevalansı %0 ile %38,5 arasında belirlenmiştir.

Kene Örneklerinin İncelenmesi

Araştırma odaklarında hayvanlar üzerinden ve ahırlardan toplam 1248 kene toplanmıştır. Tür identifikasyonu sonucunda *Hyalomma detritum* (408 erkek, 494 dişi), *H. a. anatolicum* (59 erkek, 9 dişi), *H. marginatum* (58 erkek, 10 dişi), *Rhiphicephalus sanguineus* (18 erkek, 5 dişi), *Rhiphicephalus annulatus* (14 erkek, 128 dişi, 45 nimf) türlerinin ergin ve nimfleri tespit edilmiştir. Yalnızca Çine (4 ahır) ve Nazilli'de (1 ahır) ahırda aç olgun kenelere (*H. detritum*) rastlanmıştır. Duvardan toplanan kenelerde farklı oranlarda enfeksiyona rastlanmıştır. Çine'deki ahırlarda kenelerin enfeksiyon yüzdeleri %10 (2/20), %15 (3/20), %20 (4/20), %50 (10/20) şeklindeydi. Nazilli'deki ahırda ise %40 (8/20) kenede enfeksiyona rastlanmıştır.

TARTIŞMA

Tropikal theileriosis'e karşı makroşizont hücre kültürü ile aşılama korunmada önemli bir yer tutmaktadır. Türkiye'de tropikal theileriosis'e karşı az sayıda üretilen aşının korunmada etkili olabilmesi ve kontrol programlarının doğru uygulanabilmesi epidemiyolojik verilerin varlığına bağlıdır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar *T. annulata*'nın Aydın ilinde yaygın olarak bulunduğunu göstermiştir. Bölgeler arasında mikroskobik ve serolojik olarak farklılıklar gözlenmiştir. Mikroskopik olarak genel toplamda *T. annulata*'nın prevalansı %1,9 ile %14,3 arasında görülmüştür. Daha önce Ege Bölgesinde yapılan çalışmalarda, tropikal theileriosis'in prevalansı mikroskopik bakı ile %43,2 (13) ve %9,0 (12) olarak belirtilmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların örneklerin toplandığı yer ve toplandığı zaman dilimi ile bağlantısı olduğu düşünülmektedir.

Serolojik olarak IFA ile yapılan çalışmalarda yine bölgeler arasında hastalığın prevalansı açısından farklılıklar görülmüştür. Aşılanan hayvanların büyük bir bölümünde seropozitif yanıt elde edilmesi aşılama sonrası hayvanlarda immun yanıtın geliştiğini göstermektedir. Makroşizont ve piropasma antijenleri kullanılarak yapılan IFAT'ın sonucunda antijenlere göre serolojik yanıtta farklılıklara rastlanmıştır. Genel olarak hem aşılanmış hem de kontrol gruplarında aşılama sonrası piropasma karşı seropozitiflik makroşizonta olan seropozitiflikten daha düşük oranlarda bulunmuştur. Ege Bölgesinde daha önce yapılan serolojik taramalarda IFAT ile *T. annulata*'nın

prevalansı %40,0 (11) ve %31,0 (12) olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar bölgelere ve örneklerin alım zamanına göre daha önce yapılan çalışmalardaki sonuçlara benzerlik göstermektedir. Yapılan çalışmada aşılama sonrası seropozitifliğin 6 aydan itibaren azalarak 12 ay devam ettiği (21), başka bir çalışmada (39) ise seropozitifliğin ortalama 3 ay sürdüğü, 4'üncü aydan itibaren azaldığı ortaya konmuştur. Yine aşılama sonrası antikor seviyesinin 2'inci aydan itibaren azaldığı ve bir yılın sonunda %20,6'ya düştüğü bildirilmiştir (1). Nalbantoğlu (23) ise aşılama sonrası seropozitifliğin 1-2 yaş grubunda 12 ay devam ettiğini, 2 yaş üstü hayvanlarda ise 3'üncü aydan itibaren azalmaya başladığını ve 7'inci ayda sıfırlandığını belirlemiştir. Bu çalışmada ise aşılama sonrası en fazla Nisan ayında %94,67 oranında seropozitiflik gözlenirken bu oran azalarak Aralık ayında %15,52 seviyesine düşmüştür.

Bu çalışmada barınak ve hayvanların üzerinden toplanan az sayıdaki kene örneklerinin tür tayininden elde edilen sonuçlar bölgede daha önce yapılan çalışmalarla (4) uyum göstermiştir. Barınaklardan toplanan aç olgun *Hyalomma detritum*' ların tükrük bezlerinde *T. annulata*'nın gelişme formları araştırılmış ve değişik oranlarda enfeksiyona rastlanmıştır. Bu farklılıkların hayvanların yetiştirme biçimindeki farklılıklarla ve bölgedeki taşıyıcı hayvan sayısı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma, tropikal theileriosis'e karşı uygulanan aşının %100 koruma sağlamadığını göstermektedir. Aşılı gruptaki hayvanlardan toplam 10 hayvanda klinik theileriosis gelişmiş ve bunlardan biri uygulanan tedaviye rağmen ölmüş, 9'u ise tedaviye cevap vermiştir. Bu 10 hayvanın Nisan dönemindeki IFA sonuçlarına (makroşizont antijeni) bakıldığında tamamında antikor oluştuğu görülmüştür. Bu da aşılama da bir uygulama hatası yapılmadığını göstermiştir. Bu durum daha önce Kayseri ve Kapadokya yöresinde yapılan çalışmalarla uyum içindedir (19). Deneysel yapılan bir diğer çalışmada ise *T. annulata* Pendik hücre kültürünün 315'inci pasajının uygulandığı 4 hayvandan 2'sinde heterolog sporozoitler ile enfeksiyon sonucunda hastalık gelişirken 2'sinde tam bir koruma gelişmiştir (18).

Gerek aşılı gerek aşısız gruba dahil hayvanların mikroskobik bakılarında parazitin bulunma oranlarının arasındaki farkın anlamlı olmaması ($P > 0,01$) aşılamanın etkinliğini tartışmalı hale getirmiştir.

Yaptığımız çalışmada gerek aşılı gerekse kontrol grubunda hastalanan hayvanların buldukları bölgedeki yetiştirme biçimlerinin hastalığın görülmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Çine'de hastalanan hayvanların çoğu 0-1 yaş arası ve erkek, et danası ve ağırlıklı olarak ahırda tutulan hayvanlar oluştururken İncirliova'da ise hasta grubunun çoğunluğunu meraya giden 1 yaş üstü sütçü sığırların oluşturduğu gözlenmiştir.

Atenüye makroşizont aşılarının sahada tam koruma sağlamaması üzerine çeşitli hipotezler ileri sürülmektedir. Genel olarak atenüye makroşizontlar kullanılarak elde edilen immunité homolog parazitlerle enfeksiyonlara optimum immunité sağlarken heterolog enfeksiyonlara karşı daha az

koruma sağlamaktadır (5, 6, 9, 14). Parazit suşları arasındaki antijenik farklılıklar aşıya hücre kültürü ile aşılama hayvanlardaki immunitiyi etkileyebilir. Glukoz fosfat izomeraz (GPI) polimorfizm ve anti-makroşizont monoklonal antikorların kullanılarak yapılan çalışmalarda sporozoitlerde ve düşük pasaj hücre kültürlerinde genellikle birden fazla parazit popülasyonunun bulunduğu buna karşılık yüksek pasaj aşıya hücre kültürlerinde ise tek bir popülasyonunun olduğu gösterilmiştir (16). Bu durum, hayvanların birden fazla parazit popülasyonuyla karşılaşmalarının daha iyi bir koruma sağlayacağı olasılığını ortaya çıkartmaktadır. Aşının tam koruma sağlayamamasının bir diğer nedeni de pasajlamanın çok uzun sürdürülerek hücrelerin fazla aşıya olması ve buna bağlı olarak patojeniteleri ile beraber immunojenitelerinde de azalmalar meydana gelmesi olarak gösterilebilir (30, 38). Ayrıca, bir bölgede aynı aşının defalarca kullanılmasının, aşıya karşı hayvanlarda hücre reddi oluşmasına yol açabildiği ve böylece immün cevabın oluşmasını engelleyebildiği bildirilmiştir (24, 25).

Sonuç olarak aşı uygulamalarından tam bir koruma elde edebilmek için çeşitli faktörlerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Aşılama yapılacak bölgelerde epidemiyolojik verilerin doğru bir şekilde elde edilmesi ve hayvan yetiştirme biçimlerinin dikkate alınması gereklidir. Ayrıca tekrarlayan aşılamalarda hücre reddinin göz önünde bulundurulması yeni aşıya makroşizont ile enfekte hücre kültürü aşılarının geliştirilmesi düşünülmelidir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK (VHAG- 1905) ve TANVAC (EC INCO-DEV-ICA4-CT-200-30020) tarafından desteklenen projelerin bir kısmını oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

1. **Açııcı M**, 2002. Samsun yöresinde tropikal theileriosis'e karşı aşılanan sığırlarda saha çalışmaları. *Türkiye Parazit Derg*, 26(3): 257-265.
2. **Aktas M, Altay K, Dumanlı N**, 2006. A molecular survey of bovine *Theileria* parasites among apparently healthy cattle and with a note on the distribution of ticks in eastern Turkey. *Vet Parasitol*, 138: 179-185.
3. **Anon**, 1997. *OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines Office International des Epizooties*. Paris: p. 321-330.
4. **Aydın L, Bakırcı S**, 2007. Geographical distribution of ticks in Turkey. *Parasitol Res*, 101 (2): 163-166.
5. **Barnett, SF**, 1963. The biological races of the bovine *Theileria* and their host-parasite relationship, in Immunity to protozoa. Garnham PCC, Pierce AE, Roitt I. eds. *A Symposium of British Society for Immunology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. p. 180-195.
6. **Barnett SF**, 1977. *Parasitic Protozoa IV*. J.P. Kreier. ed. London: Academic Pres. p.77-113.
7. **Brown CGD**, 1990. Control of theileriosis (*Theileria annulata* infection) of cattle. *Parassitologia*, 32: 23-31.
8. **Burridge MJ**, 1971. Application of the indirect fluorescent antibody test in experimental East Coast fever (*Theileria parva* infection of cattle). *Res Vet Sci*, 12: 338-341.
9. **Darghouth MA, Benmiled L, Bouattour A, Melrose TR, Brown CGD, Kilani M**, 1996. A preliminary study on the attenuation of Tunisian schizont-infected cell lines of *Theileria annulata*. *Parasitol Res*, 82: 647-655.
10. **Dumanlı N, Aktas M, Çetinkaya B, Çakmak A, Köroğlu E, Saki CE, Erdoğan Z, Nalbantoğlu S, Öngör H, Şimşek S, Karahan M, Altay K**, 2005. Prevalence and distribution of Tropical Theileriosis in eastern Turkey. *Vet Parasitol*, 127: 9-15.
11. **Eren H, Çakmak A, Yukarı BA**, 1995. Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinde *Theileria annulata*'nın seroprevalansı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 42: 57-60.
12. **Eren H, Özlem MB, Sert H, Kaplan A**, 1998. Aydın yöresi sığırlarında *Theileria annulata* (Dschunkowsky ve Luhs)'nın prevalansı. *Türkiye Parazit Derg*, 22: 177-179.
13. **Erkut HM**, 1967. Ege Bölgesi sığırlarında piroplasmosis durumu ve tedavide yeni ilaçlamalar. *Bornova Vet Arş Enst Derg*, 8: 120-30.
14. **Gill BS, Bhattacharyulu Y, Singh A, Kaur D. and Gill HS**, 1981. Chemotherapy against *Theileria annulata*. Irvin AD, Cunningham MP, Young AS. eds. *Advances in the Control of Theileriosis*. The Hague: Martinus Nijhoff. p.218-222.
15. **Goddeeris BM, Katende JM, Irvin AD, Chumo RSC**, 1982. Indirect fluorescent-antibody test for experimental and epizootiological studies on East Coast Fever (*Theileria parva* infection in cattle) - Evaluation of a cell-culture schizont antigen fixed and stored in suspension. *Res Vet Sci*, 33: 360-365.
16. **İlhan T**, 1995. *Theileria annulata*: immunity and carrier state. Master Tezi. The University of Edinburgh. Edinburgh.
17. **İlhan T, Williamson S, Kirvar E, Shiels B, Brown CG**. 1998. *Theileria annulata*: carrier state and immunity. *Ann N Y Acad Sci*, 29(849): 109-125.
18. **İlhan T**. 1999. Diagnostic methods for epidemiological studies of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection of cattle). Doktora tezi. University of Edinburgh. Edinburgh.
19. **İnci A, Çakmak A, Çam Y, Karaer Z, Ataserver A, İça A**, 2002. Kayseri yöresinde tropikal theileriosis'e bağlı ekonomik kayıplar. *Türkiye Parazit Derg*, 26: 156-60.
20. **Karagenc T, Günseli H, Öncel T, Aysul N**, 2007. Vaccine production and application against tropical theileriosis in Turkey. Attenuated vaccines for animal diseases ICTTD-3-Asian Component Workshop. April, 16-28, Borstel-Germany
21. **Karatepe B**, 2000. Niğde yöresinde tropikal theileriosis'in aşılama sonrası epidemiyolojisi. Doktora Tezi. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Programı. Ankara.
22. **McHardy N, Morgan DWT**, 1985. Treatment of *Theileria annulata* infection in calves with parvaquone. *Res Vet Sci*, 39: 1-4.
23. **Nalbantoğlu S**, 1996. Çukurova yöresinde tropikal theileriosis'e karşı aşılanan sığırlar üzerinde saha çalışmaları. Doktora tezi. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Parazitoloji Programı. Ankara.

24. **Nichani AK, Brown CGD, Campbell JDM, Maxwell MH, Waddington D, Spooner RL**, 1997a. Allograft responses can interfere with the development of immunity against *Theileria annulata* following vaccination with parasite infected cell lines. *Parasite Immunol*, 19: 287-90.
25. **Nichani AK, Brown CGD, Spooner RL**, 1997b. Revaccination with the same *Theileria annulata* infected cell line may not be feasible for boosting immunity against tropical theileriosis. *Trop Anim Health Prod*, 29: 114-118.
26. **Norval RAI, Perry BD, Young AS**, 1992. *The epidemiology of theileriosis in Africa*. London. Academic Pres.
27. **Onar E**, 1989. Türkiye'de Tropikal Theileriosis'e (*Theileria annulata*) karşı aşı hazırlama ve uygulama çalışmaları. Demiröz K, Uysal Y, Nadas ÜG, Türkaslan J, Altınel C, Alp H, eds. *Uluslararası mycoplasmosis ve theileriosis sempozyumu*. İstanbul: Pendik Hayv Hast Merk Araş Enst Yay: 10. 47-52.
28. **Özkoç Ü, Pipano E**, 1981. Trials with cell culture vaccine against theileriosis in Turkey. Irvin AD, Cunningham MP, Young AS. eds. In *advances in the control of theileriosis*, The Hague: Martinus Nijhoff. p. 256-258.
29. **Pipano E, Cahana M**, 1969. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of *Theileria annulata*. *J Parasitol*, 55: 765.
30. **Pipano E**, 1989. Bovine theileriosis in Israel. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*. 8: 79-87.
31. **Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Vatasever Z. and Nalbantoğlu S**, 2003. Studies on the epidemiology of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) in cattle in central Anatolia, Turkey. *Trop Ann Hlth Prod*, 35(6): 521-539.
32. **Sayın F, Nalbantoğlu S, Karaer Z, Çakmak A, Dinçer Ş, Vatasever Z, İnci A, Yukarı BA, Eren H, Günay M, Onar H, Alp H**, 2004. Türkiyede tropikal theileriosis üzerine araştırmalar. *Turk J Vet Anim Sci*, 28: 963-971.
33. **Sayın F, Dinçer Ş, Karaer Z, Çakmak A, Zeybek H, Dündar B, Nalbantoğlu S, Vatasever Z, Yaralı C, Deniz A**, 2005. Sığırlarda tropikal theileriosis üzerine epidemiyolojik araştırmalar. *Etilik Vet Mik Derg*. 16(1-2): 43-55.
34. **Singh DK**, 1990. Recent developments in research and control of *Theileria annulata* in India. Dolan TT. (Ed.) *Recent developments in the Research and control of Theileria annulata*. Nairobi: ILRAD. p. 11-13.
35. **Tait A, Hall FR**, 1990. *Theileria annulata*: Control measures, diagnosis and the potential use of subunit vaccines. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 9: 387-403.
36. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü 2001 Süreli Yayınları <http://www.tarim.gov.tr/aryuz/5/icerik.asp?fl= uretim/ istatistikler/istatistikler.htm>.
37. **Walker AR, McKellar SB, Bell LJ, Brown CGD**, 1979. Rapid quantitative assessment of *Theileria annulata* in ticks. *Trop Anim Health Prod*, 11: 21-26.
38. **Wenshun L. and Hong Y**, 1994. Bovine and ovine theileriosis in China and its immune prophylaxis. European Union third Coordination Meeting on Tropical Theileriosis. Temmuz, 7-10, Antalya-Turkey.
39. **Yaman N**, 1998. Ankara Çubuk yöresinde Tropikal Theileriosis'e karşı aşılamanın sığırlarda aşılama sonrası seroepidemiolojik çalışmaları. Doktora Tezi. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Programı. Ankara.
40. **Zabrosky VT**, 1990. Specific prevention of bovine theileriosis in the USSR. Dolan TT. ed. *Recent Developments in the research and control of T. annulata*. Proceedings of Workshop. September, 17-18, Nairobi-Kenya.
41. **Zhang ZH**, 1990. *Theileria annulata* in control in China. *Recent Developments in the research and control of T. annulata*. Dolan TT. ed. Proceedings of Workshop. September, 17-18, Nairobi-Kenya.