

# TÜRKİYE'DE SIĞIRLARDAN *TRYPANOSOMA THEILERI* (LAVERAN, 1902)'NİN İZOLASYONU VE KÜLTİVASYONU

Abdullah İnci<sup>1</sup>

Fahri Sayın<sup>2</sup>

## Isolation and cultivation of *Trypanosoma theileri* (Laveran, 1902) from cattle in Turkey

**Summary:** A total of four *Trypanosoma theileri* isolates were obtained from three cattle in Ankara and from one cattle in Elazığ. Three of the cattle suffered from tropical theileriosis due to *Theileria annulata* and the other one was in healthy condition. Blood culture methods and complete RPMI-1640 medium were used for the cultivation of the isolates. The cultures were incubated at 37 C in an incubator with 95% air and 5% CO<sub>2</sub>. *Trypanosoma theileri* was observed in the cultures on 5th day of the incubation by inverted microscopic examination. It was also detected in cytospin centrifuge smears of the cultures. The growth cultures were subcultured and cryopreserved at different passage steps using 10% DMSO and stored at -196 C in liquid nitrogen.

This is the first report revealing the occurrence, isolation and cultivation of *T. theileri* in Turkey.

**Özet:** Üç'ü Ankara ve 1'i Elazığ kökenli sığırlardan olmak üzere, toplam 4 *T. theileri* izolatu elde edilmiştir. Bu parazitin izole edildiği sığırlardan 3'nün *Theileria annulata* ile enfekte olduğu, diğerinin ise herhangi bir hastalık semptomu göstermediği anlaşılmıştır. İzolatların ekiminde kan kültür metodları ve komple RPMI-1640 vasatı kullanılmıştır. Kültürler 37 C'de % 95 hava ve % 5 CO<sub>2</sub> içeren etüve bekletilmişlerdir. Etüve konulduktan 5 gün sonra, inverted mikroskopta yapılan muayene ile kültürlerde *T. theileri* görülebilmektedir. Ayrıca bu parazitler hücre santrifüjü ile yapılan frotilerde de saptanmışlardır. Üreyen kültürlerin pasajları yapılmıştır. Farklı pasaj basamaklarındaki kültürler %10'luk DMSO ile dondurulmuşlar ve -196 C'de saklanmışlardır. Bu çalışma ile ilk defa Türkiye'de sığırlarda *T. theileri*'nin varlığı ortaya konmuş, izolasyonu yapıp kültürde üretilerek tanımı yapılmıştır.

## Giriş

*Trypanosoma theileri* (Kinetoplastorida, Trypanosomatidae) Laveran, 1902 kamçılı bir protozoon olup sığırların perifer kanında plazma içinde yaşar (19). Her kıtada bir çok ülkede görüldüğü için kozmopolit bir parazit olarak tanımlanır (14, 19, 23, 34).

*Trypanosoma theileri* oldukça büyüktür. Uzunluğu genellikle 60-70µ arasında değişir (14, 19, 23, 24, 31, 34, 36). Lanset şeklinde olan parazitin vücudunun arka ucu uzun ve sivri, kinetoplast arka uçtan uzakta ve içeride yer alır, dalgalı zarı belirgin, flagellum uzun ve

uç kısmı serbesttir (19, 23, 24, 31, 34). Sığırların kanında bu parazitin trypomastigot ve epimastigot şekillerine, çeşitli doku ve lenf yumruklarında, uzunluğuna ikiye bölünerek çoğalan, epimastigot şekillerine rastlanılmıştır (7, 9, 16, 17, 19, 37, 39). Başta *Tabanus* ve *Haematopota* olmak üzere *Tabanidae* ailesine bağlı çeşitli soylarda yer alan sokucu sineklerle bir sığırdan diğerine nakledilir (11, 14, 19, 23, 31, 34).

*Trypanosoma theileri* çok yaygın olmakla beraber genellikle patojen olmayan bir tür olarak tanımlanır (14, 19, 23, 31, 34). İrlanda (16), İngiltere (38), Amerika Birleşik Devletleri (1, 2, 9, 10, 19, 24, 31), Kanada (40), Kolombiya

1 Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Protozooloji ve Entomoloji Bilim Dalı, 06110 Ankara.

2 Prof. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Protozooloji ve Entomoloji Bilim Dalı, 06110 Ankara.

(17), Arjantin (26), Nijerya (12, 18, 38), İsviçre (25), Fransa (28) ve Almanya'da (29) sağlıklı görünen sığırlardan bu parazit izole edilmiştir. Bununla beraber dalağı çıkarılan (34), bağışıklığı kırılan veya herhangi bir hastalığa yakalanan sığırlarda bu parazitin patojen hale geldiği ileri sürülmüştür (3, 7, 14, 15, 16, 19, 23). Nitekim süt verimi azalan (30), anemik olan (37), abort yapan (6, 15, 20, 21) ineklerden bu parazit izole edilmiştir. Ayrıca abort yapmış inekten izole edilip bu parazitin 3 haftalık bir danaya inoküle edilmesinden 4-5 gün sonra danada durgunluk ve ateş gibi belirtilerin ortaya çıktığı bildirilmiştir (20). Diğer taraftan *T. theileri* enfeksiyonu ile lenfosit sayısındaki artış arasında paralel bir ilişki bulunduğu ileri sürülmüş (4, 8, 13, 22, 36) ve bu ilişki danalar üzerinde yapılan deneyle kanıtlanmıştır (4). Nitekim in vitro ortamda *T. theileri*'nin mononükleer lökositler üzerine mitojenik etki yaptığı belirtilmiştir (13).

Normal kan muayenesinde, düşük parazitemi dolayısıyla, saptanamayan *T. theileri*'yi, sığırlarda görebilmek için kültür metodlarının kullanılması önerilmektedir (5, 8, 22, 27, 32, 35).

Türkiye'de sığırlarda *T. theileri*'nin varlığını belirtmek ve ileride bu konuda yapılacak çalışmalara ışık tutmak amacıyla bir ön çalışma yapılmış, elde edilen bulguların yayınlanması uygun bulunmuştur.

### Materyal ve Metot

Ankara'nın Ayvalı semtindeki bir özel çiftlikte hastalanıp tedavi için A.Ü. Veteriner Fakültesi'ne getirilen Holstein ırkı 4 yaşındaki ineğin tropikal theileriosis yakalandığı anlaşılmıştır. *Theileria annulata*'yı izole etmek amacıyla bu hayvandan 10ml kan heparinli steril tüpe alınmış ve bu kanın kültürü yapılmıştır. Faz kontrast inverted mikroskopla muayene edilen kültürde, ekimden 5 gün sonra, enfekte lenfositlerde bulunan *T. annulata* şizontlarına ilaveten, lenfositler arasında hareketli çok sayıda *Trypanosoma*'ya rastlanılmıştır. Bunun üzerine yukarıda belirtilen çiftliğe gidilmiş ve orada bulunan yaşları 6 ay ile 7 yıl arasında değişen, sağlıklı görünüşte, 6 Holstein sığırdan 10'ar ml kan heparinli steril tüplere alınıp kültürleri yapılmıştır. Ayrıca Ankara'nın Karacaören semtinden A.Ü. Veteriner Fakültesi'ne getirilen ve tropikal theileriosis teşhisi konan Holstein ırkı bir inekten alınan 10 ml heparinli steril kanın, keza Elazığ'da F.Ü. Veteriner Fakültesi'ne getirilip tropikal theileriosis yakalandığı anlaşılan, Montofon ırkı 6 yaşındaki bir inekten alınan 10ml heparinli steril kanın kül-

türlerinde de *T. annulata* şizontlarının ve *Trypanosoma*'nın üreyip üremediği araştırılmıştır. Bütün bu hayvanlardan, kültür için alınan kana ilaveten, perifer kan frotileri yapılmış, bu frotilerde *T. annulata* ve *Trypanosoma* parazitleri araştırılmıştır. Ayrıca heparinli kılcal hematokrit tüplerine kan çekilerek hem kanın hematokrit değeri saptanmış, hem de *Trypanosoma* yönünden muayene yapılmıştır.

**Kültür Vasatı:** *Trypanosoma theileri*'nin izolasyon ve kültivasyonunda RPMI-1640 (Gibco, Cat. No. 079-03018 A) vasatı, % 20 fetal dana serumu (FCS, Gibco, Cat. No. 013-06290 H), L-glutamin (Gibco, Cat. No. 25030-032) ve Penicillin+Streptomycin (Gibco, Cat. No. 600-5145 AE) ilave edilerek komple yapıldıktan sonra kullanılmıştır.

**PBL\* İzolasyonu ve PBL Kültürünün Hazırlanması:** Steril olarak her sığırdan alınan 10ml heparinli kan, steril kabin (laminar flow) içinde, 10ml steril PBS ile karıştırılmış ve bu karışım içerisinde 8ml Ficoll-paque (Pharmacia, Cat. No. 17-0840-02) bulunan konik tabanlı steril bir universal tüpe (Sterilin, Cat. No. 128B) tabaka oluşturacak şekilde transfer edilmiştir. Altta Ficoll-Paque onun üzerinde PBS+kan karışımı bulunan ağız kapatılmış universal tüp soğutmalı santrifüjde (Heraus Minifüge RF) 15 C'de 2800 devir/dakika (r.p.m.)de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifügasyonun sonunda steril 10ml'lik bir pipet ile en üstteki sıvıdan bir miktar alınmış ve atılmıştır. Bunu takiben steril 5ml'lik bir pipet ile buffy-coat adı verilen lenfositlerin bulunduğu kısım dikkatlice alınmış ve içerisinde 20ml PBS bulunan steril universal tüpe transfer edilmiş ve 15 C'de 1500 r.p.m.'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifügasyonun sonunda üstteki PBS sıvısı alınmış ve atılmıştır. Dipteki hücre peleti üzerine 20ml steril PBS konulmuş ve pipete edildikten sonra 15 C'de 1500 r.p.m.'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra üstteki PBS sıvısı atılmış ve hücre peleti üzerine taze, soğuk (buz dolabında tutulan), komple RPMI-1640 vasatından 5ml ilave edilerek pipete edilmiştir. Hücre sayımı yapılarak ideal konsantrasyon ayarlanmış ve 25 cm<sup>2</sup> yüzey alanına sahip doku kültürü şişesine (Nunc, Cat. No. 163371) transfer edilmiştir. Kültür şişesi 37 C'de % 95 hava ve % 5 CO<sub>2</sub> içeren etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

**Tam Kan Kültürünün Hazırlanması:** Steril olarak her sığırdan alınan 10ml heparinli kandan 0.5ml alınmış ve içerisinde 4.5ml soğuk, taze, komple RPMI-1640 vasatı bulunan universal tüpe konulmuştur. 5ml'lik steril bir

\* Peripheral blood lymphocytes (perifer kan lenfositleri).

pipet yardımıyla pipete edildikten sonra doku kültürü şişesine transfer edilmiş ve 37 C'de % 95 hava ve % 5 CO<sub>2</sub> içeren etüvde dik pozisyonda 5 gün süreyle inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda üst kısımdan steril bir pastör pipeti ile bir miktar alınmış ve atılmıştır. Atılan hacimde 37 C'de ısıtılmış taze komple RPMI-1640 vasatı ilave edilmiş ve yatık pozisyonda tekrar etüve bırakılmıştır.

**Kültürlerin Değerlendirilmesi:** Buffy-coat kültürleri rutin olarak haftada üç kez faz kontrast inverted mikroskop (Nikon, TMS) ile incelenmişlerdir. Ayrıca hücrelerdeki transformasyonları, kültürlerin canlılık oranlarını tespit edebilmek için kültürlerden hücre santrifüjü (cytospin centrifuge, Shandon, Cytospin 2) frotileri hazırlanmıştır. Hücre santrifüjü frotilerinde *T. theileri*'nin epimastigot, intermediate (ariform) ve trypomastigot formları saptanmıştır. Kültür şişelerindeki hücreli faaliyetler ve metabolik aktiviteler dikkate alınarak haftada üç kez vasat değiştirilmiştir. Kültürlerin üremeye başlamasından sonra subkültürleri yapılmıştır. PBL kültürlerinde olduğu gibi kan kültürleri de faz kontrast inverted mikroskopla incelenmişler ve bu kültürlerden de hücre santrifüjü frotileri hazırlanmış ve değerlendirilmiştir.

**Subkültürlerin Hazırlanması:** Mililitredaki hücre sayısı ideal konsantrasyonun üstüne ulaşmış (10<sup>6</sup> hücre/ml) kültürlerin subkültürleri yapılmıştır. Subkültür yaparken kültürün canlılık oranı saptanmış ve kültür şişesindeki canlı hücre sayısı hesaplanmıştır. Mevcut canlı hücre sayısı dikkate alınarak ideal konsantrasyonlu (10<sup>5</sup> hücre/ml) yeni kültür hazırlanmıştır. Bunun için hücre sayısına göre eski kültürden belirli miktarda alınmış ve yeni bir kültür şişesine konmuştur. Bunun üzerine ideal konsantrasyonu verecek hacimde 37 C'de ısıtılmış, taze, komple RPMI-1640 vasatı ilave edilmiştir. Hazırlanan yeni kültür, faz kontrast inverted mikroskopta incelendikten sonra 37 C'de % 5 CO<sub>2</sub> içeren etüvde inkübe edilmiştir.

**Kültürlerin Dondurulması ve Saklanması:** Dondurma işlemine başlamadan yaklaşık 2 saat önce her kültür flaskı için 2 ml kapasiteli 5 adet dondurma tüpü (cryovial, Nalgene Cat. no. 5000-0020), üzerine gerekli bilgiler (kültürün adı ve orijini, pasaj no, koruyucu madde ve oranı(%)) ve tarih yazıldıktan sonra -20 C'lik derin dondurucuya konulmuşlardır. Bu sürenin sonlarına yaklaşırken 10 ml'lik steril bir santrifüj tüpüne 5 ml taze, komple RPMI-1640 vasatı, diğer bir 10 ml'lik steril santrifüj tüpüne de % 20'si DMSO (Dimethylsulphoxide, BDH Analar, Cat. No. 103232 J) olacak şekilde (4 ml vasat+1 ml DMSO) 5 ml komple RPMI-1640 vasatı konulmuştur. Bu tüpler, içerisinde kırıl-

mış buz bulunan bir behere yerleştirilmişlerdir. Diğer taraftan kültür şişesinde bulunan hücre süspansiyonu, konik tabanlı 10 ml kapasiteli steril bir santrifüj tüpüne transfer edilmiş ve 4 C'de 1500 r.p.m'de 5 dakika santrifüj yapılmıştır. Santrifüj işleminin sonunda üstteki vasat atılmış ve hücre peleti üzerine buz içerisinde tutulan 5 ml komple RPMI-1640 vasatı ilave edilmiş ve iyice süspansiyon yapılmıştır. Bunun üzerine 5 ml % 20 DMSO içeren komple RPMI-1640 vasatı damla damla ilave edilmiş, neticede hücreler için toksik olmayan % 10'luk DMSO oranına ulaşılmıştır. Daha sonra bu hücre süspansiyonu -20 C'de tutulan dondurma tüplerine tevzi edildikten sonra -75 C'lik derin dondurucuya bırakılmışlardır. Bir gece bu ısı derecesinde tutulduktan sonra ertesi gün -196 C'de sıvı azot tankına nakledilmişlerdir.

**Frotilerin Hazırlanması, Boyanması ve İncelenmesi:** Sığırların perifer kanından (kuyruk ucundan) hem kalın damla ve hem de sürme frotiler hazırlanmıştır. Kalın damla frotiler 100 C'de 15 dakika, sürme frotiler de metil alkolde (BDH, 36048 4L) 5 dakika bekletilerek tespit edilmişlerdir. Ayrıca hem buffy-coat izolasyonları esnasında ve hem de daha sonra tesis edilmiş olan kültürlerden hücre santrifüjü frotileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu frotiler metil alkolde 5 dakika tespit edilmişlerdir. Tespitleri yapılan frotiler, oda ısısında, içerisinde % 5'lik Giemsa boya (BDH, Gurr, Cat. No. 35014 4M) solusyonu (5 ml Giemsa+95 ml distile su, pH 7.2) bulunan özel boyama kabında 40 dakika boyanmışlar, sürenin sonunda distile su ile yıkanmışlar ve immersion objektifi ile mikroskopda (Photomax Olympus 200615 plan 100x) incelenmişlerdir. Fotoğraflar, Photomax Olympus 200615 mikrofotografi cihazında çekilmiştir. Kamera lucida cihazında da resimleri çizilmiştir.

## Bulgular

Muayene edilen 9 sığırdan hiç birisinde, hem kültür için kan alma sırasında perifer kandan yapılan kalın damla ve sürme frotilerde, hem de kültür yapma sırasında buffy-coatdan hazırlanan hücre santrifüjü (cytospin centrifuge) frotilerinde *Trypanosoma* görülmemiştir. Komple RPMI-1640 ile hazırlanan gerek PBL ve gerekse tam kan kültürlerinde inkübasyondan 5 gün sonra yapılan faz kontrast inverted mikroskop muayenelerinde Ankara'da tropikal theileriosis'e yakalanmış 2 sığırla, sağlıklı görünen 1 sığırdan, Elazığ'da tropikal theileriosis'e yakalanmış 1 sığırdan gönderilen kandan hazırlanan kültürlerde hareketli bazı mikroorganizmalar görülmüştür. Bu kültürlerden hazırlanan hücre santrifüjü frotilerinde bu mikroorganizmaların *Trypanosoma* oldukları anlaşılmıştır.

Bu frotilerde mevcut parazitin trypomastigot formunun morfolojisi, dalgalı zar yapısı, dalgalı zarı taşıyan, flagellumun serbest kısmının uzuluğu ve parazitin boy ölçüsü göz önünde tutularak bu parazitin *T. theileri* olduğuna karar verilmiştir.

*Trypanosoma theileri*'nin trypomastigot şekli oldukça büyük, lanset şeklinde, ön ve arka uçları sivri, dalgalı zar belirgin, tek flagellumlu, flagellumun dalgalı zarı taşıyan ucu uzundur. Kinetoplast arka uçtan oldukça uzakta ve içeride yer almıştır (Şekil: 1).

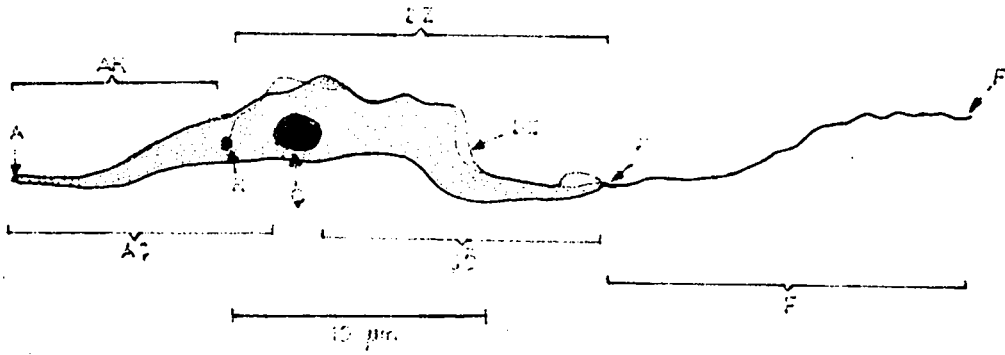


Şekil: 1. *Trypanosoma theileri*, x1000. Kültürden inkübasyonun 5. günü hazırlanmış ve Giemsa ile boyanmış hücre santrifüjü frotisinden (cytospin smear) çekilmiştir.  
Figure: 1. *Trypanosoma theileri* organisms in the cytospin smear which was prepared from the culture on 5th day of cultivation and stained with Giemsa stain, x 1000.

Kültürlerden inkübasyonun 5. gününde hazırlanan hücre santrifüjü frotilerinde trypomastigot safhasındaki 50 parazitin uzunluğu ölçülmüştür. Ortalama vücut uzunluğunun 45.41' (31.40'-67.51'), arka uç ile çekirdek arası uzunluğunun (AÇ) ortalama 24.14' (14.13'-39.25') çekirdek ile ön uç arası ortalama uzunluğunun (ÇÖ) 21.27' (17.27' -28.26'), arka uç ile kinetoplast arası ortalama uzunluğunun (AK) 19.43' (12.56' -31.40'), kinetoplast ile çekirdek arası ortalama uzunluğunun (KÇ) 4.71' (1.57' -7.85'), ortalama çekirdek genişliğinin 3.50' (3.14' -4.71'), ortalama dalgalı zar uzunluğunun (DZ) 25.29' (17.27' -31.50'), serbest flagellumun ortalama uzunluğunun 18.82' (15.70' -23.55'), serbest flagellumu da kapsayan ortalama vücut uzunluğunun 64.23' (47.10' -91.06') olduğu görülmüştür. Ortalama nükleer index 0.91 (0.72-1.11) olarak bulunmuştur (Şekil: 2). Nükleer index, arka uç ile kinetoplast arası uzunluğunun (AK), çekirdek ile

ön uç arası uzunluğuna (ÇÖ) bölünmesiyle saptanmıştır. Kültür yapıldıktan 5 gün sonra hazırlanan hücre santrifüjü frotilerinde görülen *T. theileri*'nin % 52'sinin trypomastigot, % 27.6'sının araform (intermediate) ve % 26.4'nün epimastigot safhasında olduğu tespit edilmiştir.

Ankara'nın Ayvalı ve Karacaören semtlerinden A.Ü. Veteriner Fakültesine getirilen ve tropikal theileriosis'e yakalandıkları saptanan 2 inekten alınan kanlardan, Elazığ'da tropikal theileriosis'e yakalanmış 1 inekten alınıp gönderilen kandan hazırlanan kültürlerde *T. annulata* şizontları ile enfekte lenfositlerin üremesi beklenirken inkübasyonun 5. gününde *T. theileri* üremiştir. Buna karşılık Ankara'nın Ayvalı semtindeki çiftlikte bulunan sağlıklı 6 sığırdan alınan kanlarla yapılan kültürlerden sadece 1'inde *T. theileri* üremiştir. Bu kan, 6 aylık, sağlıklı, Holstein ırkı bir danadan alınmıştır.



Şekil: 2. *Trypanosoma theileri*'nin trypomastigot formu. Kültürden inkübasyonun 5. güne hazırlanmış ve Giemsa ile boyanmış hücre santrifüjü frotisinden çizilmiştir.

A= Arka uç, K= Kinetoplast, Ç= Çekirdek, Ö= Ön uç, AK= Arka uç ile Kinetoplast arası uzunluğu, AÇ= Arka uç ile Çekirdek arası uzunluğu, ÇÖ= Çekirdek ile Ön uç arası uzunluğu, DZ= Dalgalı zarın uzunluğu, F= Serbest Flagellumun uzunluğu, Nüklear İndex (NI)= AK/ÇÖ

Figure: 2. Trypomastigote form of *T. theileri* which was drawn using camera lucida from the cytospin smear prepared from the culture on 5th day of cultivation and stained with Giemsa.

A= Posterior end, K= Kinetoplast, Ç= Nucleus, Ö= Anterior end, AK= Posterior end to kinetoplast distance, AÇ= posterior end to nucleus distance, ÇÖ= nucleus to anterior end distance, DZ= undulating membrane distance, F= length of free flagellum, NI= nuclear index (posterior end to kinetoplast distance/nucleus to anterior end distance)

Üç'ü tropikal theileriosis'e yakalanmış, diğeri sağlam görünümlü toplam 4 sığırdan elde edilen *T. theileri* izolatları ileride yapılacak çalışmalarda kullanılmak üzere değişik pasaj basamaklarında % 10'luk DMSO ile dondurulmuşlardır. *Ayvalı-1*, *Ayvalı-2*, *Karacaören* ve *Elazığ* isimleri verilen bu izolatlar -196 C'de sıvı azotta saklanmaktadır.

*Trypanosoma theileri* saptanan sığırlardan 3'nün tropikal theileriosis'e de yakalandıkları anlaşılmıştır. Bu sığırlarda titreme, ateş, zayıflama, hareketsizlik gibi semptomlar görülmüştür. Hepsinin kan frotisinde *T. annulata*'nın piproplazmik şekilleri bulunmuştur. Ayvalı'dan getirilen sığırın vücut ısısının 35.5 C'ye düştüğü, *T. annulata* parazitemisinin % 70, hematokrit değerinin % 8 olduğu saptanmıştır. Karacaören'den getirilen sığırın vücut ısısı 41 C, hematokrit değeri % 13 olarak ölçülmüş, perifer kan frotisinde *T. annulata* parazitemisi % 40 bulunmuştur. Elazığ'daki tropikal theileriosisli sığırın vücut ısısının 38.8 C olduğu belirtilmiş ve bu sığıra ait perifer kan frotisinde *T. annulata* parazitemisi % 30 olarak saptanmıştır. Ayvalı'da, sağlıklı görünen, fakat kanında *T. theileri* üretilen danada *T. theileri* dışında herhangi bir kan parazite rastlanmamıştır. Bu danada kan değerleri normal fizyolojik sınırlar içinde bulunmuş ve hastalıkla ilgili herhangi bir semptom görülmemiştir.

## Tartışma ve Sonuç

Sığırlarda bulunan *Trypanosoma* türleri patojenitelerine göre patojen ve apatojen olmak üzere iki gruba ayrılmışlardır. *Trypanosoma congolense*, *T. uniform*, *T. evansi*, *T. vivax* ve *T. brucei* patojen grupta toplanmışlardır. Patojen türlerden *T. congolense*'nin trypomastigot şeklinin 9-18'' uzunlukta ve arka ucunun küt olduğu, kinetoplastının tipik şekilde kenarda yer aldığı, dalgalı zarının belirgin olmakla beraber flagellumunun serbest kısmının bulunmadığı, tropikal Afrika'da bulunduğu ve siklik olarak çeşitli *Glossina* türleriyle nakledildiği bildirilmiştir (19, 33, 34). *Trypanosoma vivax*'ın trypomastigot şeklinin 20-27'' uzunlukta ve arka ucunun geniş olduğu, kinetoplastının büyük ve arka uçta bulunduğu, dalgalı zarının belirgin, flagellumunun var olan serbest kısmının kısa olduğu, Afrika'da bulunduğu ve *G. tachinoides*, *G. morsitans* tarafından nakledildiği belirtilmiştir (19, 33, 34). *Trypanosoma uniform*'un 12-20'' uzunlukta olduğu, flagellumunun serbest kısmının bulunduğu ve fakat kısa olduğu, sığırlarla birlikte koyun, keçi ve antiloplarda da enfeksiyon meydana getirdiği ileri sürülmüştür (19, 33, 34). *Trypanosoma evansi*'nin uzunluğunun 15-30'' olduğu, kinetoplastının arka uca çok yakın bir bölgede yer aldığı, dalgalı zarının iyi geliştiği, flagellumunun serbest uca sahip olduğu belirtilmiştir; *T. brucei*'nin 25-35'' uzunlukta olduğu, serbest ucu uzun bir flagellumunun bulunduğu, Afrika'da yaygın olan bu türün *G. palpalis* ile taşındığı belirtilmiştir (19, 33, 34). Buna karşı-

lık apatojen grupta bulunan *T. theileri*'nin uzunluğunun 25-120' arasında değiştiği, çeşitli araştırmacıların saptadıkları ölçümlerden anlaşılmıştır (15, 19, 23, 24, 31, 34, 36). Keza bu türün arka ucunun uzun ve sivri olduğu, kinetoplastının arka uçtan uzakta ve içeride yer aldığı, dalgalı zarının belirgin, flagellumunun serbest kısmının uzun olduğu yine bazı araştırmacılar tarafından saptanmıştır (6, 7, 19, 23, 31, 36, 38). Bunların dışında bu türün, patojen *Trypanosoma* türleri gibi belirli bir bölgede hüküm sürmeyip dünyanın her yerinde görüldüğü (14), *Tabanus* ve *Hematopota* soylarına bağlı sokucu sinekler tarafından nakledildiği anlaşılmıştır (11, 14, 19, 23, 31, 34). Bu araştırmada izole ettiğimiz *Trypanosoma* türünün şekil, vücut ölçüleri ve tropikal theileriosis'e yakalanmış sığırlarla birlikte, sağlıklı sığırlarda da bulunmaları açıklarından tamamen *T. theileri*'nin özelliklerini taşıdığı sonucuna varılmıştır.

Diğer taraftan apatojen olmasına rağmen, dalağın çıkarılması veya başka sebeplerle bağışıklığın kırılması ya da araya başka bir hastalığın girmesi hallerinde enfekte sığırlarda *T. theileri*'nin patojen hale geldiği ve hayvanda bir hastalık tablosu oluşturduğu bildirilmiştir (7, 8, 14, 16, 34, 36, 37). Nadir olmakla birlikte B-lenfositlerine bağlı immun yetmezliğinde de *T. theileri* enfeksiyonunda hastalık tablosunun şekillendiği belirtilmiştir (3). Ayrıca *T. congolense* ile enfekte sığırlarda B-lenfositlerinin sayısında bir artış olduğu (39), benzer şekilde *T. theileri* enfeksiyonu ile sığır lenfositosisi arasında da pozitif bir korelasyon bulunduğu ileri sürülmüştür (4, 5, 7, 8, 22, 36).

Bazı araştırmacılar (1, 6, 15, 20, 21, 41) *T. theileri*'nin intrauterin olarak yavrulara geçtiğini bildirmişlerdir. Bazıları da (12, 18) bu parazitten ileri gelen enfeksiyonun, yaşlı sığırlara nazaran, danalarda daha az görüldüğünü belirtmişlerdir. Diğer bir kısım araştırmacı (22, 31, 35) fetal serumlarda inhibitör antikor bulunmadığı için, bu serumların katıldığı vasatlarda *T. theileri*'nin daha iyi ürediğini ileri sürmüşlerdir. Aynı araştırmacılar (22, 31, 35) yaşlı ve enfeksiyon geçirmiş olma ihtimali fazla sığırların serumu yerine, kültür vasatlarında inaktive edilmiş fetal serumların kullanılmasını tavsiye etmişlerdir.

Bir çok araştırmacı (3, 7, 12, 17, 27, 34, 40), *T. theileri*'yi doku kültüründe üretmek için değişik metot ve vasatlar kullanmışlardır. Bunlardan bazıları (27, 34), komple yapılmış RPMI-1640 vasatında *T. theileri*'nin çok iyi ürediğini bildirmişlerdir. Metot bahsinde ayrıntısı anlatılan yöntemlerle kullanılan komple RPMI-1640 vasatında *T. theileri*'nin çok iyi ürediği görülmüştür.

#### Kaynaklar

1. Annon (1966). *Trypanosoma theileri* in Virginia cattle. JAVMA, 149: 1294.
2. Atchley, F.O. (1951). *Leucocytozoon andrewsi* n. sp., from chickens observed in a survey of blood parasites in domestic animals in South Carolina. J Parasitol 37: 483-488.
3. Baker, D.C., Gaumt, M.S., Nielsen, K.H. and Adams, L.G. (1982). Hemoparasitism, humoral immunodeficiency and an Ig1 fragment in a cow. JAVMA, 181: 480-483.
4. Cross, R.F., Redman, D.R., Bohl, E.H. (1968). *Trypanosomes associated with bovine lymphocytosis*. JAVMA 153: 571-575.
5. Cross, R.F., Smith, C.K. and Redman, D.R. (1971). *Observations on Trypanosoma theileri infection in cattle*. Can J Comp Med 35: 12-17.
6. Dikmans, G., Manthei, C.A. and Frank, A.H. (1957). *Demonstration of Trypanosoma theileri in the stomach of an aborted bovine fetus*. Cornell Vet 47: 344-353.
7. Doherty, M.L., Windle, H., Voorheis, H.P., Larkin, H., Casey, M., Clery, D. and Murray, M. (1993). *Clinical disease associated with Trypanosoma theileri infection in a calf in Ireland*. Vet Rec 132: 653-656.
8. Du, N.X., Li, R.J. (1982). *Isolation of Trypanosoma theileri from lymphocyte cultures prepared from cows infected with bovine leukosis*. J Nanjing Agri Coll 3: 99-108.
9. Ewing, S.A. and Carnahan, D.L. (1967). *Occurrence of Trypanosoma theileri in bovine peripheral blood*. JAVMA 150: 1131-1132.
10. Farrar, R.G. and Klei, T.R. (1990). *Prevalence of Trypanosoma theileri in Louisiana cattle*. J Parasitol 76: 734-736.
11. Foil, L.D. (1989). *Tabanids as vectors of disease*. Parasitol Today 5: 88-96.
12. Gray, A.R. and Nixon, J. (1967). *Observations on the incidence and importance of Trypanosoma theileri in Nigeria*. Ann Trop Med Parasitol 61: 251-260.
13. Hare, W.C.D. and Soulsby, E.J.L. (1969). *Stimulation of DNA synthesis in bovine leukocyte cultures by Trypanosoma theileri antigen*. J Parasitol 55: 973-976.
14. Herbert, I.V. (1964). *Trypanosoma theileri, Laveran, 1902: A cosmopolitan parasite of cattle*. Vet Bull 34: 563-570.
15. Hussian, K., Brodie, B., Ott, R.S. and Montealegre, F. (1985). *Prevalence of Trypanosoma theileri in cows and fetuses at slaughter*. Am J Vet Res 46: 1256-1258.
16. Kalra, I.S., Singh, K.B., Singh, B., P. Singh, R.P., Nauryial, D.C. and Galhotra, A.P. (1984). *Trypanosoma theileri infection in cows*. Ind Vet J 61: 612-614.
17. Kuttler, K.L., Adams, L.G. and Zaraza, H. (1970). *Epidemiology of Anaplasma marginale and Trypanosoma theileri in Colombia*. Rev Inst Colomb Agropecuar 5: 127-148.
18. Leach, T.M. (1964). *The incidence of T. theileri in cattle at Wom*. Rept Niger Inst Tryp Ann Rep 22: 22.
19. Levine, N.D. (1985). *Veterinary Protozoology*. 1st Ed., Iowa State University Press. Ames.
20. Levine, N.D., Watrach, A.M., Kantor, S. and Hardenbrooh, H.J. (1956). *A case of bovine trypanosomiasis due to Trypanosoma theileri in Illinois*. J Parasitol 42: 553.
21. Liggett, A.D. and Goldsmith, S.W. (1986). *Bovine neonatal death associated with Trypanosoma theileri infection*. Agri Pract 7: 29-30.

22. **Malmquist, W.A.** (1965). *Trypanosomes in leukocyte cultures*. Vet Rec 77: 350.
23. **Mansfield, J.M.** (1977). *Nonpathogenic trypanosomes of mammals*. In Parasitic Protozoa. Vol. I., Ed. J.P. Kreier, Academic Press. New York, San Francisco, London.
24. **Matthews, D.M., Kingston, N., Maki, L. and Nelms, G.** (1979). *Trypanosoma theileri Laveran, 1902 in Wyoming cattle*. Am J Vet Res 40: 623-629.
25. **Metzler, A.** (1975). *Cultural demonstration of Trypanosoma theileri like trypanosomes in Brown Swiss cattle in Eastern Switzerland*. Schw Arch Tierheil 117: 113-117.
26. **Monzon, C.M., Mancebo, O.A., Jara, G.A. and Hoyos, C.B.** (1993). *Trypanosoma theileri (Laveran, 1902) in cattle in Formosa province: Isolation, culture and hematological changes*. Vet Argent 10: 236-241.
27. **Nguyen, B.A.V.Y.** (1983). *Culture in vitro of Trypanosoma theileri on bovine thyroid cells*. Rev Elev Med Vet Par Trop 35: 225-231.
28. **Nougayrede, P. and Perrin, G.** (1986). *Presence of Trypanosoma theileri in cattle in Western France*. Epid Sant Anim 9: 61-64.
29. **Petrich, J.** (1976). *Cultural detection of Trypanosoma theileri in cattle in Northern Germany*. Vet. Med. Tierarzt. Hochsch. Hannover. Thesis.
30. **Ristic, M. and Trager, W.** (1958). *Cultivation at 37 C of trypanosome (Trypanosoma theileri) from cows with depressed milk production*. J Protozool 5: 146-148.
31. **Schlafer, D.H.** (1979). *Trypanosoma theileri: A literature review and report of incidence in New York cattle*. Cornell Vet 69: 411-425.
32. **Sollad, A.E. and Soulsby, E.J.L.** (1968). *Cultivation of Trypanosoma theileri at 37 C in partially defined media*. J Protozool 15: 463-466.
33. **Soltys, M.A. and Woo, P.T.K.** (1977). *Trypanosomes producing disease in livestock in Africa*. In Parasitic Protozoa. Vol I., Ed. J.P. Kreier, Academic Press. New York, San Francisco, London.
34. **Soulsby, E.J.L.** (1986). *Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals*. 7th Ed., Bailliere Tindall, London.
35. **Splitter, E.J. and Soulsby, E.J.L.** (1967). *Isolation and continuous cultivation of Trypanosoma theileri in media containing tissue culture fluids*. Exp Parasitol 21: 137-148.
36. **Townsend, J., Duffus, W.P.H. and Glauert, A.M.** (1982). *An ultrastructural study of the interaction in vitro between Trypanosoma theileri and bovine leukocytes*. J Cell Sci 56: 389-407.
37. **Ward, W.H., Hill, M.W.M., Mazlin, I.D. and Foster, C.K.** (1984). *Anemia associated with a high parasitemia of Trypanosoma theileri in a dairy cow*. Aust Vet J 61: 324.
38. **Wells, E.A., Lumsden, W.H.R. and McNeillace, G.J.C.** (1968). *Isolation of trypanosomes of the section stercorearia from cattle in Nigeria and United Kingdom*. Br Vet J 24: 382-392.
39. **Williams, D.J.L., Naessens, J., Scott, J.R. and McOdimba, F.A.** (1991). *Analysis of peripheral leucocyte populations in N'Dama and Boran cattle following a rechallenge infection with Trypanosoma congolense*. Parasite Immunology 13: 171-185.
40. **Woo, P.T.K., Soltys, M.A. and Gillick, A.C.** (1970). *Trypanosomes in cattle in Southern Ontario*. Can J Comp Med 34: 142-147.
41. **Woo, P.T.K. and Limebeer, R.L.** (1971). *Evidence of intrauterine transmission of a trypanosome in cattle*. Acta Trop 28: 61-63.