

## TEŐEKKÜR

Tez çalıőmam sırasında destek ve yardımlarını esirgemeyen başta danıőmanım Doç.Dr. Murat SEVGİLİ olmak üzere, serolojik testlerin uygulanmasında yaptığı katkılardan dolayı Veteriner Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Oktay KESKİN'e, istatistiksel analizlerin yapılmasındaki katkılarından dolayı Zootekni Anabilim Dalı Öğretim Elemanı Araő.Gör.Dr. Durhasan Mundan'a ve bu teze maddi destek sağlayan Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Komisyonu'na teőekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Sınıflandırma.....	2
2.2. Morfolojik Özellikler.....	2
2.2.1. <i>Hypoderma</i> Soyunda Bulunan Sinek Türlerinin Genel Morfolojik Özellikleri.....	2
2.2.2. Tür: <i>Hypoderma bovis</i> (de Geer, 1776).....	3
2.2.3. Tür: <i>Hypoderma lineatum</i> (de Villiers, 1789).....	5
2.3. <i>Hypoderma bovis</i> ve <i>Hypoderma lineatum</i> 'un Üçüncü Dönem Larvalarının Morfolojik ve Moleküler İdentifikasyonu.....	5
2.4. <i>Hypoderma bovis</i> ve <i>Hypoderma lineatum</i> 'un Yaşam Siklusları.....	6
2.5. <i>Hypoderma bovis</i> ve <i>Hypoderma lineatum</i> 'un Konakçıları.....	10
2.6. Hypodermosis'in Yaygınlığı.....	10
2.7. Klinik Belirtiler.....	11
2.8. Hypodermosis'in Patogezi ve Ekonomik Önemi.....	12
2.9. Hypodermosis ve Konakçı İmmunolojisi.....	14
2.10. Hypodermosis'e Karşı Yapılan Aşı Denemeleri.....	15
2.11. Teşhis.....	16
2.11.1. Klinik Parazitolojik Muayene.....	16
2.11.2. Postmortem Bulgular.....	17
2.11.3. Histopatoloji.....	17
2.11.4. Serolojik Teşhis.....	17
2.11.4.1. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	19
2.12. Hypodermosis ile Mücadele.....	20
2.12.1. Hypodermosis Mücadelesinde Kullanılabilecek Paraziter İlaçlar.....	22
2.13. Korunma.....	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	24
3.1. Hayvan Materyali.....	24
3.2. Kan Serumlarının Elde Edilmesi ve Muhafazası.....	24
3.3. Testin Yapılışı.....	24
3.3.1. Serumların Yerleştirilmesi.....	24
3.3.2. Yıkama .....	25
3.3.3. Konjugatın Konulması.....	25

3.3.4. Yıkama.....	25
3.3.5. Reaksiyonların Açığa Çıkarılması.....	25
3.3.6. Okuma.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	31
6. KAYNAKLAR.....	37

## ÖZET

### Şanlıurfa Yöresindeki Sığırlarda Hypodermosisin Seroprevalansı

Zeliha Özkutlu

Parazitoloji Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma, Şanlıurfa yöresindeki sığırlarda hypodermosis'in seroprevalansını belirlemek amacıyla yapıldı. Şanlıurfa Merkez, Suruç, Siverek, Viranşehir ve Akçakale ilçelerinden rasgele seçilmiş 300 sığıra ait serum örnekleri ticari bir ELISA test kitiyle incelendi. Sonuçta 300 sığırın 116 (%38,6)'sı seropozitif bulundu. 1 yaşın altındaki 124 hayvanın 38 (%30,6)'i, 1 yaş ve üzeri 176 hayvanın 78 (%44,3)'i, 100 kültür ırkının 16 (%16)'sı, 200 melez ırkın 100 (%50)'ü, 150 dişi sığırın 56 (%37,3)'sı, 150 erkek sığırın 60 (%40)'i, Merkez'deki 60 sığırın 22 (%36,6)'si, Suruç'ta 18 (%30)'i, Siverek'te 27 (%45)'si, Viranşehir'de 42 (%70)'si ve Akçakale'de de 7 (%11,6)'si hypodermosis yönünden seropozitif olarak tespit edildi.

Irklara göre yapılan değerlendirmede, melez ırklarla kültür ırkının seropozitiflik oranları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunurken ( $P < 0.001$ ), cinsiyete göre yapılan değerlendirmede ise seropozitiflik oranları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Yine yaşa ve odaklara göre yapılan değerlendirmelerde, 1 yaşın altındaki hayvanlarla 1 yaş ve üzeri hayvanlar arasında ( $P < 0.01$ ), Viranşehir ve Akçakale ile diğer odaklar arasında istatistiksel olarak önemli farklar ( $P < 0.001$ ) bulunmuştur.

Sonuç olarak Şanlıurfa yöresindeki sığırlarda hypodermosis yönünden yüksek oranda seropozitiflik saptandı.

**Anahtar Sözcükler:** Hypodermosis, Sığır, ELISA

## ABSTRACT

### Seroprevalence of Hypodermosis in Cattle of Şanlıurfa (Turkey) Region

Zeliha Özkutlu

Parasitology Master Tezz

The aim of this study was to determine the seroprevalence of hypodermosis in cattle of Şanlıurfa region. For this purpose, 300 cattle sera samples randomly collected from the centre of Şanlıurfa, Suruç, Siverek, Viranşehir and Akçakale towns were analysed by means of a commercial ELISA kit. 116 out of 300 cattle (38.6%) were found to be seropositive. 38 of 124 animals (30.6%) aged < 1 year, 78 of 176 animals (44.3%) aged  $\geq 1$ , 16 of 100 (16%) pure breed cattle (Holstein-frisian, Simmental and SwissBrown), 100 of 200 cross breed animals (50%), 56 of 150 females (37.3%), 60 of 150 males (40%), 22 of 60 (36.6%) animals from centre, 18 (30%) from Suruç, 27 (45%) from Siverek, 42 (70%) from Viranşehir and 7 (11.6%) from Akçakale were seropositive for hypodermosis.

The difference of seropositivity between pure breed and cross breed animals was statistically significant ( $P < 0.001$ ). There was no significant difference between males and females. Significant differences were found between animals aged < 1 year and aged  $\geq 1$  year ( $P < 0.01$ ) and between animals from Akçakale as well as Viranşehir and other regions ( $P < 0.001$ ).

As a result, high seropositivity for hypodermosis in cattle in Şanlıurfa region was determined.

**Key Words:** Hypodermosis, Cattle, ELISA

## 1. GİRİŞ

Sığırlarda hypodermosis, *Hypoderma bovis* (de Geer, 1776) (*H. bovis*) ve *Hypoderma lineatum* (de Villiers, 1789) (*H. lineatum*) türü sineklerin larvaları tarafından oluşturulan bir deri myiasis'idir. Mevsimsel olarak sonbahar, kış ve hatta ilkbahar döneminde görülen ve enfeste hayvanların dorsal ve lumbal bölgelerinde bulunan derialtı şişlikleriyle (warble) karakterize olan paraziter bir hastalıktır (44). Meydana gelen bu hastalığa halk arasında nokra, okra, büvelek ve imiç adları da verilmektedir (40). Bu paraziter hastalık, tropikal ve subtropikal bölgelerde çok yaygın olup, sığırlarda süt ve et verimi düşüklüğü ve deride oluşturduğu hasarlardan dolayı önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (25, 34, 40, 56, 60).

Kuzey yarımkürede görülen *Hypoderma bovis* ve *H. lineatum* sinekleri 25-60° enlemler arasında yer alan bütün ülkelerde bulunurlar. Enfeste sığırların ithal edilmesiyle Güney Amerika ve Güney Asya'da da, nadir olarak görülmüşlerdir. Bu sinekler aynı zamanda topuk sineği, sığır sineği ve yapışkan sinek olarak ta bilinirler (25, 34, 40, 56, 60).

*Hypoderma* soyundaki bu iki türün dişileri, yumurtalarını sığırların üzerine, sığırları bulamadıkları zaman ise insan ve atlar üzerine bırakabilirler, ancak bu konakçılarda larvalar normal gelişimlerini tamamlayamazlar. Bununla beraber, sığırlarla birlikte aynı merayı kullanan Amerikan bizonlarında da bu türlerin varlığı tespit edilmiştir (60).

*Hypoderma* soyunda *H. lineatum* ve *H. bovis*'ten başka, geyiklerde parazitlenen *H. diana*, *H. tarandi*, koyun ve keçilerdeki *H. aeratum*, *H. crossi*, yine keçi ve atlarda myiasis'e neden olan *H. acteon*, *H. silenus* ve karacalardaki *H. capreola* türleri de bulunmaktadır (60).

*Hypoderma bovis* ve *H. lineatum*'un biyolojisi ile ilgili ilk bilimsel araştırmalar İtalya'da Vallisneri tarafından 1700'lü yıllarda yapılmıştır. 19. yüzyılın ortalarında ise Avusturya'da Brauer tarafından daha kapsamlı bir incelemede bulunulmuştur. Bu araştırmalar İngiltere'de Ormerod ve Imms, Amerika'da Riley, Osborn, Mote, Bisshop ve arkadaşları ve Kanada'da Hadwen tarafından yapılan çalışmalar takip etmiştir. Ayrıca, sistemik insektisitlerin kullanımı yaygınlaşmadan önce Amerika'da James ve Scharff, Almanya'da Gebauer, Rusya'da Grunin, Norveç'te Natvig, İskoçya'da MacDougall ve İngiltere'de Edwards-Bevon tarafından da bazı çalışmalar yapılmıştır (56).

Son yıllarda hypodermosis'in kontrolü için gösterilen çabalara rağmen hastalık hala Amerika, Kanada, Afrika, Avrupa ve Asya'da yaygın olarak görülmektedir (52). Türkiye'de de sığırlarda hypodermosis'in yaygın olduğu bildirilmiştir (14, 27, 54, 55).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sınıflandırma

Kök: Arthropoda

Kök Altı: Antennata

Sınıf: Insecta

Dizi: Diptera

Dizi bölümü: Nematocera

Dizi bölümü: Cyclorrhopha

Aile: Hypodermatidae

Soy: *Hypoderma*

### 2.2. Morfolojik Özellikler

#### 2.2.1. Hypoderma Soyunda Bulunan Sinek Türlerinin Genel Morfolojik Özellikleri

*Hypoderma* soyunda bulunan sineklerin vücutları ovalimsidir, genel olarak ince ve sık tüylerle örtülüdür (40). Antenleri çok kısadır ve 3 parçalıdır. Bunlardan 3. parçanın sırt tarafında bulunan ve arista denilen çıkıntı bulunmaktadır (28, 31). Rostellum atrofiye olmuş, palp yok, ayaklar ince ve uzundur. Göğüs parçalarından mezotoraks iyi gelişmiştir ve kanatlarındaki ven sayısı azdır (24, 28, 40). Bu sinekler 6 çift kromozoma sahiptirler (56).

Bu sineklerin larvaları başsız ve ayaksızdır. Ön uçları ince, arka tarafları daha geniş çaplı ve silindirikdir. Larvanın büyüklüğü larval döneme göre değişmektedir. Bu larvalarda vücut 12 parçadan oluşmaktadır ve bunlardan en öndekine baş, en sondakine de anüs parçası denir. Baş parçasında bir çift ağız çengeli ve dudak skleriti vardır. Anüs parçası küt olarak

sonlanır. Burada bir çift arka solunum deliği levhası ve bu solunum levhasında solunum delikleri (stigmat) vardır. Solunum deliklerinin etrafını çevreleyen bu levha koyu renkli ve sert bir yapıdadır. Bu levhanın etrafı tamamen veya kısmen peritrem denilen kitinli bir halka ile çevrili olabilir (28).

*Hypoderma* sineklerinin son dönem larvaları pupa dönemine geçerken, larvanın dış örtüsü sertleşir ve puparium (koza) denilen pupa kabuğunu oluşturur. Fıçı şeklinde olan pupalar hareketsizdirler ve başlangıçta açık renkli iken, zamanla sarı-koyu kahverengine dönerler. Gelişmesini tamamlayan erişkin sinek, yuvarlak bir yarık vasıtasıyla pupadan çıkar (24, 25, 28, 34, 40, 60).

### **2.2.2. Tür: *Hypoderma bovis* (de Geer, 1776)**

*Hypoderma bovis* sineği oldukça büyük olup, bal arılarıyla benzerliklerinden dolayı karıştırılabilirler. Ancak arıda iki çift, *H. bovis*'te ise bir çift kanat vardır (40). *H. bovis* 11-15 mm uzunluğunda ve siyah-sarı renktedir (24, 25, 40). Baş kısa ve geniş yapıda olup, yan taraflarda bir çift kısa anten ve fazla büyük olmayan bir çift petek göz bulunmaktadır. Gözler arasındaki mesafe dişide geniş, erkekte ise dardır. Göğüs kısmından bir çift büyük kanat ve üç çift bacak çıkmaktadır. Sırtın ön tarafında bulunan kıllar beyaz-sarı renkteyken, arkadakiler siyah renktedir (24). Abdomenin önünde beyaz-sarı, ortasında siyah ve arka kısmında portakal sarısı renginde tüyler bulunmaktadır (60). Kanatların üzerindeki damarlar kıvımsız esmer renktedir (25, 40). Dişi sineklerin arka kısmında konakçı kılları üzerine yumurta yapıştırmak için özelleşmiş bir organ olan ovipozitor bulunmaktadır (24, 56).

*Hypoderma bovis*'in yumurtaları oval yapıda olup, dişi sinekler her kıla tek tek yumurtaları yapıştırarak bırakmaktadırlar. Yumurta ile kıl arasında 45 derecelik bir açı vardır. Yumurtanın uzunluğu 0,8 mm, genişliği ise 0,3 mm olup, tabanında özelleşmiş bir yapışma organı bulunmaktadır (24, 40, 56).

Yumurtadan çıkan birinci dönem larvalar yarı saydam, mat beyaz ve ortalama 1,0 x 0,5 mm büyüklüğündedir. Dikenlerle örtülü olan halkalardan özellikle önde bulunan dikenler daha kuvvetlidir. Arka halkada bulunan stigmatlar yuvarlak, koyu renkli, noktalı ve haç şeklindedir. Önde ise ağız organellerinin üzerinde iki küçük çıkıntı şeklinde stigmatlar bulunmaktadır. Ağız çengelleri distalde ikiye bölünmüştür (25, 40, 34, 60). Yumurtadan çıkan birinci dönem larvaların kutikulası 4-7 lamelden oluşan bir prokutikula üzerinde



bulunan epikutikuladan meydana gelmektedir. Kutikulanın dış yüzeyinde sıkı bir tarzda dizilmiş olan ince bir elektron katmanı mevcuttur. Bu sıkı yapıdaki elektron katmanı dış kutikular katmandan daha seyrek yapıda olan bir elektron kuşağıyla ayrılmaktadır. Epikutikula katmanı dış ve iç katman olarak iki şekilde görülmektedir. Dış katman ince ve yoğun şekilde dizilmiş elektron yapısındayken, iç katman elektron yoğunluğunun miktarı ve kalınlık açısından iç katmanın yaklaşık iki katıdır. Yumurtadan yeni çıkmış larvalarda prokutikula tabakası 0,8-1,4 µm, iç epikutikula 0,07-0,23 µm, dış epikutikula 0,02 µm, toplam epikutikula 0,11-0,24 µm ve toplam kutikula tabakası 0,89-1,7 µm kalınlığındadır (19).

Yumurtadan çıkıp deri altına giren larvalar vücut içinde göç etmeye başlamaktadırlar. Bu sırada büyüklükleri ve çeşitli özellikleri de değişmektedir. Vücut içinde göç eden 6-7 aylık birinci dönem larvalardaki kutikula kalınlığı, prokutikular lamel sayılarındaki artışla birlikte (35-40 lamel) yumurtadan yeni çıkmış larvalarinkinden daha fazladır. Bu larvalarda dış epikutikula 5 katmandan oluşmuştur. Bu larvalardaki kutikula kalınlığı 7,5-7,9 µm, iç epikutikula 0,89 µm, dış epikutikula 0,03 µm, toplam epikutikula 0,92 µm ve toplam kutikula kalınlığı da 8,3-8,7 µm'dir (19).

*Hypoderma* larvalarının kutikulasında belirgin bir şekilde göze çarpan por kanalları bulunmaktadır. Bu kanallar 2-3 µm kalınlığında, helezon şeklinde ve kitini bir yapıdadır (33).

Vücut içinde göç ederek sırt derisi altına gelen larvalar 10-12 mm büyüklüğe ulaşabilmektedir. Silindirik yapıda, ön ucu hafif sivri ve mat beyaz renkte olan larvanın son halkası dışında bütün halkaları dikensizdir (25, 34, 40, 60).

Sırt derisi altında bulunan üçüncü dönem larvalar 19-27 x 8-12 mm büyüklüğünde olup, vücutları fiçi şeklinde ve ön uçları daha geniş yapıdadır. Bu larvalar, çok belirgin şekilde segmentlere ayrılmış ve her segmentte dorsal ve ventral yüzde uzunlamasına iki uzun çizgi ile 8 eşit loba ayrılmıştır. Ortadaki segmentler en büyükleridir. Bu etsi çıkıntılar *Hypoderma* larvalarına özeldir (25). Vücudun dorsal yüzünde 2-9. segmentlerde iki sıra, ventral yüzde ise 1-8. halkalarda dikenler bulunmaktadır. Ağız çengelleri çok zayıftır (25, 34, 40, 60). Posterior stigmatlar yarım daire şeklinde olup peritrem kanalı dardır, iç kısmında buton yer almaktadır. Peritrem yüzeyinde çok sayıda küçük solunum delikleri bulunmaktadır. Önce krem rengi olan larvalar olgunlaştıkça esmerleşmekte ve kararmaktadır (25, 34, 40, 56, 60).

Olgunlaşp yere düşen üçüncü dönem larvalar toprağa, gübre ya da otların altına girerek pupal metamorfoza uğramaktadırlar. Pupa, arka nihayeti geniş bir fiçı seklinde olup, önce koyu esmer, sonra siyah bir renk almaktadır (25, 34, 39, 40, 60, 62), ancak puparial duvarın parçaları mikroskop altında incelendiğinde koyu parlak kırmızı olarak görülmektedir (39). Pupanın uzunluğu 20 mm kadardır (40).

### **2.2.3. Tür: *Hypoderma lineatum* (de Villiers, 1789)**

Sığırlarda parazitlenen ikinci önemli *Hypoderma* türüdür. Ergin sinekler 12-13 mm büyüklüğünde olup, esmer-sarımsı renktedir. Bu sinek türünün kısa bir başı, küçük petek gözleri vardır. Thorax'ın dorsalinde gri-sarı ve siyah tüyler bulunmakla birlikte, üzerinde uzunlamasına siyah bantlar vardır. Abdomenin ön kısmında beyaz, arka kısmında ise sarı tüyler bulunmaktadır. Ayakların üst bölümü siyah, alt bölümü de sarı renktedir. Kanatlar duman renginde ve 8-9 mm uzunluğundadır (24, 25, 34, 40, 60).

*Hypoderma lineatum*'un yumurtası oval yapıda, beyaz-sarımtırak renkte ve 1 mm uzunluğundadır. Bu yumurtanın en geniş kısmı ise 0,2 mm çapındadır (40). Dişi sinekler 7-15 adet yumurtayı dizi şeklinde sığırın karın ve bacak tüyleri üzerine yumurtlarlar (25, 34, 40, 60).

*Hypoderma lineatum*'un yumurtadan çıkan birinci dönem larvaları, *H. bovis*'in birinci dönem larvalarına benzerse de bunların ağız çengellerinin ön kısmı ikiye ayrılmamış olup, sivri bir yapıdadır. Üçüncü dönem larvalarda ise posterior stigmattaki peritrem kanalı, *H. bovis*'in üçüncü dönem larvalarında bulunan peritrem kanalından daha açıktır. Bu farklılıklar dışında, *H. lineatum*'un larvalarının morfolojik özellikleri, *H. bovis*'in larvalarına benzerlik göstermektedir (25).

### **2.3. *Hypoderma bovis* ve *Hypoderma lineatum*'un Üçüncü Dönem Larvalarının Morfolojik ve Moleküler İdentifikasyonu**

*Hypoderma* türlerinin morfolojik identifikasyonu, canlı ve kesilen hayvanlardan kolaylıkla elde edilebilen üçüncü dönem larvalar üzerinde gerçekleştirilebilmektedir. Üçüncü dönem larvaların morfolojik olarak ayrımı zor değildir, ancak bazen, *Hypoderma* türlerinin benzer ekolojik, biyolojik ve morfolojik özelliklere sahip olmasından dolayı güç olabilir. *H.*

*bovis* ve *H. lineatum* arasındaki ayırıcı özellikler scan elektron mikroskopla (SEM) gözlemlenmektedir. Üçüncü dönem larvaların identifikasyonu solunum deliği levhalarının morfolojisi, 10. abdominal segment üzerindeki diken modelleri, sefalik ve torasik segmentlerin üzerindeki dikenlerin morfolojisi ve modellerine göre yapılmaktadır.

*Hypoderma bovis*'in baş kısmındaki segment üzerinde, ağız açıklığı ve opercular scar arasında bir diken bandı bulunmaktadır. *H. lineatum* larvalarının bazılarında ise bu diken bandı varken, bazılarında bulunmamaktadır (43).

Posterior solunum deliği levhaları türler arasında açıkça görülebilen bir farklılık göstermektedir. Yarım daire şeklindeki bu çıkıntılı yapılar genel olarak *H. lineatum* larvalarında düz bir yapıdadır, ancak *H. bovis*'in larvalarındaki bu yapılar ise daha oyuklu bir görünüm sergilemektedir. Peritrem denilen kitini bir halka, bu levhaların etrafını *H. bovis* larvalarında tamamıyla çevrelerken, *H. lineatum* larvalarında ise kısmen sarmaktadır. Bunun yanı sıra, *H. lineatum* larvalarındaki peritrem kanalı *H. bovis* larvalarındaki peritrem kanalından daha açıktır (25, 43).

10. abdominal segmentin dorsal yüzeyindeki diken modelleri türler arasında farklılık göstermektedir. *H. bovis* larvalarında bu bölge dikenlerden yoksunken, *H. lineatum* larvalarında bir sıra diken bulunmaktadır (43).

Son yıllarda, bir takım moleküler evrim ve identifikasyon incelemeleri için hedef bir gen olarak mitokondrial DNA'nın sitokrom oksidaz I geni kullanılmaktadır. *H. bovis* ve *H. lineatum* larvalarının Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) ile incelenen sitokrom oksidaz I geninde iki tür arasındaki varyasyon oranı %8,5 olarak görülmektedir. *H. bovis*'in kendi larvaları arasında ise 6 nükleotidin yer değiştirmesiyle %0,87, *H. lineatum* larvalarında da 2 nükleotidin yer değiştirmesiyle %0,29 oranında bir varyasyon olduğu ortaya çıkarılmıştır (45).

#### **2.4. *Hypoderma bovis* ve *Hypoderma lineatum*'un Yaşam Siklusları**

*Hypoderma* soyunda bulunan sinekler, paraziter ve serbest olarak yaşayan, kompleks yapıya sahip biyolojik sıklusa sahip arthropodlardır (15).

Dişi bir sinek, konakçının kılları üzerine 100 ya da daha fazla sayıda yumurta bırakabilir (24, 25, 34, 40, 56, 60). Yumurtanın tabanındaki esnek ve bükülebilir saplı yapışma organı vasıtasıyla yumurtalar konakçının kılları üzerine tespit edilir. Yapışkan

madde yumurtaları kıllar üzerine sıkıca bağlayarak onları sağlamlaştırmakta, esnek, bükülebilir sap şeklindeki yapı ise yumurtaları belli bir düzene sokmaya yardım etmektedir (34).

*Hypoderma bovis*, günün sıcak ve güneşli saatlerinde konakçının üzerinde gezinirken veya uçurken yumurtalarını arka bacakların üst kısımlarına ve sağrının üst bölümündeki kıllara teker teker yapıştırarak bırakmakta ve sığırların huzursuzlanarak kaçışmasına neden olmaktadır. *H. lineatum*'un dişileri ise konakçıyı rahatsız etmezler ve tek bir kıl üzerine bir çizgi boyunca birkaç yumurta sıralarlar. Bu *Hypoderma* türü, bacaklar üzerine ve daha az olarak ta dinlenme halindeki sığırların vücutlarının bazı bölümlerine, havada süzülerek ovipozitoru yardımıyla yumurtalarını bırakır (24, 25, 34, 40, 60). Konakçının vücut ısısı, normalde 3-7 gün olan yumurta inkübasyonuna yardım etmektedir (56).

Yaklaşık 1 mm uzunluğundaki, yumurtadan yeni çıkmış larvalar kılların köküne doğru ilerlerler. Konakçı derisini ağız çengelleri ve kör barsaklarından salgıladıkları proteolitik enzimler vasıtasıyla delerek penatre olurlar. Larvaların bu penetrasyonu 1,5 saat kadar sürmektedir. Penetrasyon yerinde, daha önce enfeste olmuş yaşlı hayvanlarda daha belirgin olarak ödem ve yangı şekillenmektedir. Larvaların deride açtığı bu yerlerden bir eksudat ya da lenf sıvısının sızması sonucu deride bir yangı şekillenmektedir. Bundan dolayı da derinin şiştiği ve kabuk bağladığı görülmektedir (40, 56). Yumurtadan yeni çıkmış larvalar mum yapısındaki bir katmanla kaplıdır. Bu katman larvanın deriyi araması ve penetrasyona başlaması için kurumasını önlemeye yardım etmektedir. Mum yapısındaki hidrofobik dış katman yağ sekresyonuyla kaplı olan konakçı kıl ve derisine karşı bir affiniteye de sahiptir. Bunun yanında, konakçı yağlarının da larvaların kurumasını önlemede, deriye doğru hareket etmelerinde ve o suretle de penetrasyonu güçlendirmede etkin bir rolü bulunmaktadır (19).

Yumurtadan çıkıp derinin altına giren birinci dönem larvalar 4-6 ay boyunca ön kısımlarından salgıladıkları proteolitik enzimlerin de yardımıyla kaslar arasındaki fasial düzlemlerde, bağ doku ya da sinir uzantıları boyunca göç ederler. Larvaların sindirim şekli transkutikularlardır ve enzim hareketleri haemolymph içine besinlerin girişine yardım etmektedir (56). *H. lineatum* larvaları submukozal özefagus bağ dokusuna doğru, *H. bovis* larvaları ise spinal kanalın torasik ve lumbal vertebra bölgesinde, duramater ve periosteum arasındaki epidural yağ dokusu bölgesine doğru hareket ederler. Ancak, larvalara bu bölgelerin dışında daha az olarak ta, çeşitli iç organların yüzeyi ve intramusküler bağ dokular

dahil olmak üzere vücudun farklı bölgelerinde de (diyafragma, perikard kesesi, kalp ) rastlanılabılır. *H. bovis*'in larvalarına spinal kanalda Kasım ayından Şubat ya da Mart ayına kadar olan dönemde, *H. lineatum*'un larvaları ise Eylül ayından Şubat ayı ortalarına kadar özefagusta rastlanabileceği ileri sürülmektedir. (25, 34, 40, 56, 60). Beesley, özefagus duvarının submukozal bağ dokusunu *H. lineatum*'un 1. dönem larvaları için, spinal kanal ve epidural yağ dokusu bölgelerini de *H. bovis*'in 1. dönem larvaları için “kış dinlenme yerleri” olarak ifade etmiştir (60). Birinci dönem larvalar tanımlanan bu yerlerde sonbahar ve kış mevsimi süresince kaldıktan sonra sırt derisinin altına gelirler. Birinci dönemdeki bu larvaların önce boyu kısalarak genişler ve vücut segmentleri üzerinde diken sıraları oluşarak 10-19 mm uzunluğa sahip ikinci dönem larvalar haline gelirler (25).

Sırt derisinin altında bulunan ikinci dönem larvalar burada ödem ve iltihaplanmalara neden olurlar. İkinci dönem larvalar besinlerini neden oldukları bu yangılardan temin ederler. Bu larvalar konakçının sırt derisi altında her biri yaklaşık 3 cm çapında olan şişlikler meydana getirirler. Daha sonra, sırt derisinin altında bulunan bu ikinci dönem larvalar çengelleriyle ve salgıladıkları enzimlerle, solunum yapmak için kendilerine deride bir hava deliği açarlar. Larvalar sırt derisinde açtıkları bu deliklere doğru ters dönerek stigmatlarını dayarlar ve böylece havadaki oksijenden yararlanarak solunum yaparlar (25, 34, 40, 56, 60). Bu larvaların bazen yer değiştirdiği ve derinin başka yerlerini de deldikleri görülmüştür (40). Solunum yapmak için deliğin açılmasından sonraki bir haftalık süre içinde, ikinci dönem larvalar üçüncü dönem larva haline geçerler. İkinci dönem larvaların deri altında kalma süresi 15-55 gün arasında değişmektedir (25, 40, 60).

Şubat ayında hemen hemen bütün larvalar üçüncü dönem larva haline gelmiştir. Üçüncü dönem larvalar etraflarındaki fibröz doku tarafından oluşturulan bir kese içinde bulunurlar. Bu larvalar da ikinci dönem larvalarda olduğu gibi besinlerini meydana getirdikleri yangı ürünlerinden sağlarlar ve ürettikleri bakteriostatik substanslarla sekonder enfeksiyonları baskırlarlar. Başlangıçta beyaz renkte olan larvalar tedricen esmerleşirler ve bu safhada iki kez gömlek değiştirirler. Üçüncü dönem larvalar sırt derisi altında 30-60 gün kadar kalmaktadırlar. Bu larvalar deride açtıkları hava deliklerinden çıktıkları sırada kahverengine dönüşmektedirler (24, 25, 34, 40, 56, 60).

Ergin larvalar genel olarak sabahın erken saatlerinde yere düşerler. Yere düşen bu larvalar ışıktan kaçarak kuytu bir yer ararlar. Toprak yumuşaksa 2,5-5 cm derinliğe kadar inerek çevre ısısı da elverişliyse 12 saat içinde pupa safhasına geçerler (40, 56). Bu safhada

önce renk koyulaşır, daha sonrada bunu sertleşme takip eder. Pupariumun şekillenmesine larval kutikula kontraksiyonları, bunun yanında pupariumun suyunu kaybetmesi, kutikula moleküllerinin sıkışması ve yeniden yapılanması eşlik etmektedir (39). Pupa, olumsuz çevre koşullarına karşı son derece dayanıklı olup, kış ve ilkbaharın başlangıcındaki don olaylarında bile canlı kalabilmektedir (40). Pupa yaşamının ilk döneminde -15°C, son döneminde ise -28°C soğuk havalarda bile canlılığını devam ettirebilmektedir. Ayrıca *H. lineatum*'un pupa safhasının gelişimi, %0-98 ve üzerindeki nem oranlarından etkilenmezken, *H. bovis*'in pupa safhasının gelişimi için en uygun nem oranının %76 olduğu bildirilmektedir (34). Çok sıcak olan ekvator bölgesinde ise pupa safhası gelişemediğinden hypodermosis görülmemektedir. Pupa safhası dış çevre şartlarına bağlı olarak 3-10 hafta arasında değişmektedir. Pupa içinde gelişmesini tamamlayan sinek, bu süre sonunda pupanın kapağını iterek dışarı çıkar ve uçmaya başlar (25, 34, 40, 56, 60).

Ergin sinekler yaşam süreleri boyunca besin almazlar ve pupa safhasındayken biriktirdikleri rezervlerden aldıkları enerjiyi yalnızca çiftleşme ve üreme faaliyetlerinde kullanırlar. Yaşam süreleri normalde 3-5 gündür, ancak laboratuvar koşullarında 10-15 gün kadar bir süre canlı kalabilirler. Bu sinekler çiftleşmek için, dere yatakları veya kurumuş bataklıklarda toplanırlar ve erkekler kopulasyon için dişileri beklerler. Çiftleşen dişi sinekler 300-650 yumurta oluşturup, bunları tamamıyla olgunlaştırdıktan sonra ortaya çıkarlar. Diğer *Diptera*'ların ise fertilizasyondan sonra yumurtalarının olgunlaşması için belli bir süreye ihtiyaçları yoktur. *Hypoderma* türü dişi sinekler yaşam sürelerinin kısa oluşunu telafi etmek için iki önemli adaptasyona sahiptirler. Bunların ilki, şişlikler içinde bulunan üçüncü dönem larvalarda oogenesisin başlamasıdır. İkincisi ise bir ovaryumda aynı anda iki oositin gelişmesidir. Böylece reproduktif kapasite iki katına çıkmaktadır (56).

*Hypoderma* soyundaki bu türlerde yumurta safhasından ergin sinek haline gelinceye kadar geçen süre 10-12 ay kadardır. Bunun 10-11 aylık bölümü sığır organizmasında geçmektedir (25, 40, 56).

*Hypoderma* sinekleri buldukları bölgelerin ısısına göre sıcak bölgelerde Nisan ve Mayıs aylarından Aralık ayına kadar, serin bölgelerde ise Eylül ayına kadar uçurlar. Her iki türün birlikte bulunduğu bölgelerde *H. lineatum*, *H. bovis*'ten birkaç hafta önce uçmaya başlar. *H. lineatum*, Mayıs ayı sonlarında ya da Temmuz'un başında yumurtladığı halde, *H. bovis* ise Temmuz ayının sonlarına doğru yumurtlar (40). Her iki türün dişisi yumurtlamak için günün güneşli saatlerini tercih ederler. Bununla birlikte, bu sineklerin 4°C gibi düşük

sıcaklıklarda bile yumurtlayabildikleri gözlemlenmiştir. Beesley, ergin sineklerin 14 km çapında bir alan içinde uçtuklarını ileri sürmesine rağmen, bu sineklerin uçuşları sınırlı olup, nadiren 5 km'yi aşmaktadırlar (60).

## 2.5. *Hypoderma bovis* ve *Hypoderma lineatum*'un Konakçıları

Zumpt'un hipotezine göre bu iki *Hypoderma* türünün başlangıçtaki konakçıları Avrupa ve Asya'nın sıcak bölgelerinde bulunan nesli tükenmiş sığırlardır. Her iki tür Kuzey Amerika'ya, Avrupa'dan getirilen etçi ve sütçü sığırlarla (*Bos taurus*) ve bunu takiben de enfeste bizonlarla bulaştırılmıştır. *H. bovis* ve *H. lineatum*'un enfeste ettiği diğer konakçılar at, koyun, keçi ve insanlardır. Ancak bunlar rastlantsal konakçılardır ve bu konakçılarda *Hypoderma* larvaları gelişimlerini tamamlayamazlar. Bu yüzden de sinek popülasyonu üzerinde bunların çok az bir etkisi bulunmaktadır. *Hypoderma* türleri için uygun bir alternatif konakçı olup olmadığını belirlemek için yapılan çalışmalarda, birinci dönem *Hypoderma* larvaları bazı alıcı hayvanlara verilmiş, ancak bu denemelerde başarılı olunamamıştır. Bu larvalarla laboratuvar fareleri ve tavşanlar enfeste edilmiş ve enfestasyonun sadece bağışıklığın baskılandığı ilk dönemlerde başarılı olduğu görülmüştür (56).

## 2.6. *Hypodermosis*'in Yaygınlığı

*Hypodermosis*'in yayılışı ve bu hastalığa sebep olan etkenlerin enfestasyon oranı, iklim ve coğrafi konumu bakımından birbirinden farklı ülke veya bölgelere göre değişmektedir. *H. bovis* ve *H. lineatum* Kuzey yarımkürede, 25-60° enlemleri arasında, Asya, Afrika, Avrupa ve Kuzey Amerika'daki bütün ülkelerde bulunmaktadır. Güney sınırları ise Hindistan-Punjab, Libya, Kuzey Meksiko ve Hawaii'ye kadar uzanmaktadır. Ancak nadir olarak Güney Amerika ve Güney Asya'da ithal edilen sığırlar vasıtasıyla taşındıklarından dolayı görülmüşlerdir. *H. bovis* ve *H. lineatum*'un güneye doğru yayılmasında, pupanın yüksek ısıya karşı olan hassasiyeti sınırlayıcı bir faktör olmaktadır (56).

*Hypodermosis*'in insidensi üzerinde iklimin etkisi oldukça büyüktür. Örneğin Kuzey Avrupa'da mevsimin soğuk ve nemli geçtiği dönemlerde hastalığın insidensinin azaldığı ifade edilmektedir. Çünkü soğuk ve yağmurlu havalarda pupa öncesi ve pupa safhası

süreleri çok uzamakla birlikte ovipozisyon da güçleşmektedir (40). Ayrıca bu hastalık, danalarda ve genç sığırlarda yaşlı hayvanlara nazaran daha sık ve daha şiddetli bir şekilde seyretmektedir. Bunun nedeni muhtemelen yaşlı sığırlarda, *Hypoderma* larvalarına karşı oluşan bağışıklığın bir derece daha gelişmiş olmasından kaynaklanmaktadır (40, 60, 2).

Son yıllarda hypodermosis'in kontrolü için gösterilen çabalara rağmen, hastalık hala Amerika, Kanada, Afrika ve Avrupa'da yaygın olarak görülmektedir. Bazı ülkelerdeki serolojik çalışmalarla hastalığın prevalansı araştırılmıştır. İtalya'nın güney bölgelerinde hastalığın yaygınlığı, %85 (50), Cencek ve Ziomko'nun Polonya'nın farklı bölgelerindeki 10 sürü üzerinde yaptıkları serolojik çalışmanın sonucu olarak ise %10-86 arasında (15), Lonneux ve arkadaşları 1990-91 yılları arasında Belçika'da %86,4, Lüksemburg'da %43 oranında (36), Martinez-Moreno ve arkadaşları tarafından 1992-93 yılları arasında Batı İspanya'da direk klinik muayenede %19,5, ELISA ile yapılan araştırmada ise %42,3 oranında bulunmuştur (37). Papadopoulos ve arkadaşlarının 1996 yılında Yunanistan'ın farklı bölgelerinde %37,4 oranında seropozitiflik bulmuşlardır (49). 1989-1997 yılları arasında Benekhla ve arkadaşlarının (5), Cezayir'in 4 farklı bölgesinde yapmış oldukları klinik muayene sonucu enfestasyonun yaygınlığı ortalama %76 oranında bulunurken, Batı Romanya'da Cosoroba ve arkadaşlarının (22), 1993 yılında yapmış oldukları benzer bir araştırmada ise %55,5 oranında bir enfestasyon saptanmıştır.

Türkiye'deki sığırlarda da hypodermosis'in yaygın olduğu bildirilmekle beraber, bu hastalığa neden olan etkenlerden *H. bovis*'in, *H. lineatum*'a nazaran daha çok görüldüğü gözlenmektedir. Sayın ve arkadaşları tarafından 1980-81 yılları arasında Orta ve Doğu Anadolu'da yapılan klinik muayene ile 26.500 baş sığırın 5928 tanesi (54), Samsun yöresinde Celep ve Gürsoy'un 1982-83 yılları arasında yaptıkları bir çalışmada (14) %55'inin, Samsun ve Amasya yöresinin altı farklı bölgesindeki sığırların incelenmesiyle de %57,8'inin klinik olarak enfeste oldukları belirlenmiştir. Trakya bölgesinde 1997 yılında Gülanber ve arkadaşları tarafından yapılan klinik incelemede ise enfestasyon yaygınlığı %3,5 olarak rapor edilmiştir (27). Yine Sayın ve arkadaşlarının 1999 yılında yaptıkları bir çalışmada (55), Türkiye genelinde *H. bovis*'in enfestasyon oranının %86, *H. lineatum*'un enfestasyon oranının da % 14 olduğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada *H. lineatum*'un enfestasyon oranının serin bölgelerde düşük, ılıman bölgelerde yüksek, *H. bovis*'in enfestasyon oranının ise serin bölgelerde yüksek, ılıman bölgelerde düşük olduğu bildirilmiştir.



## 2.7. Klinik Belirtiler

*Hypoderma* sinekleri, yumurtalarını sığırların üzerine bırakmak için yaklaştıklarında hayvanları rahatsız ederler ve bu yüzden dolayı hayvanlar şüursuzca kaçırlar. Halk arasında buna “büvelek tutması” adı verilir (40).

Enfeste hayvanlarda, *Hypoderma* larvalarının sırt derisi altına gelmesine kadar geçen sürede herhangi bir belirti görülmemektedir. Bu döneme kadar, hayvanlarda süt veriminin azalması ve gelişmede gerileme gibi spesifik olmayan belirtiler gözlenebilmektedir. Ancak, *H. lineatum*'un birinci dönem larvaları özefagusa doğru gitmişse özefagusta yangıya neden olarak yutma zorluğu ve timpani gibi belirtilerin görülmesine sebep olur. *H. bovis*'in birinci dönem larvaları ise, omurga kanalında bağdoku nekrozu, osteomyelitis, ve periostitis gibi lezyonlara yol açabilir. Omurga kanalına giren larvaların ölmesi durumunda, arka ekstremitelerde tutukluk, paresis ve paralysis meydana gelebilir de bu komplikasyonlar her zaman görülmemektedir (24, 40).

Sırt derisi altında bulunan 3. dönem larvalar, tüm sırt boyunca 2-3 adetten, 100-200 adete kadar varan sayılarda, 2,5-3 cm çapında, yarım küre sekinde ve orta kısımlarında bir delik bulunan şişkinlikler halinde görülür. Bu şişkinlikler iki yanından parmakla sıkıldığında, gri-sarımtırak renkte bir eksudat ile beraber *Hypoderma* larvası da dışarıya çıkar (60).

## 2.8. Hypodermosis'in Patogenezi ve Ekonomik Önemi

*Hypoderma* türlerinin hayvancılık sektörüne verdiği zarar paraziter hastalıklar içinde oldukça önemli bir yer tutmaktadır (25).

Dişi sinekler, rudimenter yapıdaki ağızlarının kan emmeye ve sokmaya elverişli olmamasına rağmen, çıkardıkları vızıltıdan dolayı sığırları rahatsız ederek onların rahat otlamalarına engel olurlar. Sığırlar vızıltıdan rahatsız olarak gölgelik yerlere ve sulara kaçarlar. Hayvanlar, bu kaçış esnasında enerji kaybından ve rahat otlayamadıklarından dolayı kilo kayb ettikleri gibi, dikenli tel veya çitlere takılarak kendilerine zarar verebilir, abort yapabilirler (24, 34, 60, 62). 1978 yılında İngiltere'de bu gibi olaylardan dolayı ortaya çıkan ekonomik kayıplar Hides ve ATIS (Allied Trades Improvement Society) tarafından 3 milyon sterlin olarak belirtilmiştir (60).

Birinci dönem larvaların deriyi deldikleri yerlerden vücuda giren mikroorganizmalar yangı ve kasıntıya neden olurlar. *H. lineatum* larvaları özefagusa giderek seroza ve kas tabakası arasına yerleşir. Burada ödem, yangı, kanama veya sulu kıvamda, portakal renginde jelatinöz karakterde peltelere sebep olur (24).

*Hypoderma bovis* larvaları canalis vertebralis içinde öldükleri takdirde, salgıladıkları toksinler yüzünden anaflaktik şoka neden olabilirler. Larvaların tükürük bezlerinden ya da orta bağırsak bezlerinden salgılanan toksinler arka bacaklarda felce sebep olabilir. Ayrıca larvaların beyine veya spinal kanala girmeleri sonucu sığır ve atlarda yürüyüş bozuklukları ve yüz felci gibi sinirsel belirtiler görülebilmektedir (24, 34). Deneysel olarak yapılan çalışmalarda, anaflaktik şokun; 3. dönem larvaların haemolymph'inin ardarda iki kez enjeksiyonuyla, birinci dönem larvaların ise az miktarlardaki salgılarının tek bir enjeksiyonuyla oluşturulabildiği ortaya çıkarılmıştır (34).

Hypodermosis aynı zamanda sığırlarda et ve süt verimini azaltmakla birlikte, gelişmeyi de yavaşlatmaktadır (24, 25, 34, 40, 60, 62 ). Süt verimindeki kayıplar, Avrupa'da %10-15'den, Kanada'da %50'ye kadar ulaşabilen oranlarda olup, ülkeden ülkeye değişim göstermektedir. Enfeste hayvanlarda ağırlık kazancındaki azalma farklı oranlarda görülmekle birlikte, yapılan bütün çalışmalar hayvanlarda bulunan larva sayısı ile et verimi arasında doğru orantı olduğunu göstermektedir (60). Fransa'da yapılan bir çalışmada, 11-15 tane üçüncü dönem larvalarla enfeste sığırlarda 84±18 kg dolayında bir canlı ağırlık kazancı olurken, 10 taneden daha az sayıda üçüncü dönem larvalarla enfeste sığırlarda ise 102±15 kg'lık bir canlı ağırlık kazancının olduğu tespit edilmiştir. Ancak çeşitli çalışmalar, enfestasyonun insektisitlerle kontrol altına alınmasını takiben ağırlık kazancında önemli artışlar olduğunu göstermektedir (62).

*Hypoderma* enfestasyonunun meydana getirdiği önemli zararlardan biri de karkas kalitesini düşürmesidir. Larvaların, enfeste hayvanların organizmasında izledikleri göç yolları boyunca, etin rengi değişmekte ve et jelatinöz bir yapı alabilmektedir (34, 60, 62). Bundan dolayı, 1972 yılında yapılan istatistiklere göre her bir sığır karkasında yaklaşık 1,8 kg kırmızı et kaybının olduğu ve bunun da 300 sterlin değerinde maddi zarara yol açtığı belirlenmiştir (62).

*Hypoderma* larvalarının sırt derisinde açtığı delikler sonucu deride oluşan tahribat, enfestasyonun meydana getirdiği diğer zararlara oranla daha ciddi boyutlarda ekonomik kayıplara yol açmaktadır (25, 34, 40, 60, 62). Cezayir'de her yıl, *Hypoderma*

enfestasyonundan dolayı oluşan deri kaybını karşılamak için 3200 ton sığır derisi ithal edilirken, Tunus'ta her yıl 1500 ton sığır derisi kullanılamaz hale gelmektedir (4). Çin'in kuzeyinde ise her yıl deride oluşan tahribat yüzünden ortaya çıkan ekonomik kaybın 15 milyon dolar olduğu belirlenmiştir (67).

*Hypoderma* enfestasyonunda, en başta deri kaybı olmak üzere tüm bu kayıplardan ileri gelen toplam ekonomik zarar ise; 1965 yılında Avusturya'da 100 milyon şilin, 1972'de Amerika'da 192 milyon dolar olarak tahmin edilmişti. İngiltere'de eradikasyon programının başlangıcında toplam kayıp yılda 13 milyon sterlin olarak tahmin edilmekteydi; eğer hastalık 90'lı yılların başında eradike edilmeseydi bugün en az 80 milyon sterline eşdeğer bir kayıp olabileceği belirtilmektedir (62). 1982 yılında kayıplara ilişkin aktarılan diğer rakamlar ise; Yunanistan'da yılda 42 milyon dolar ve İtalya'da yılda 11,5 milyon dolardır (62). Bununla birlikte hypodermosis enfestasyonlarına ilişkin her yıl, Britanya'da 14 milyon sterlin, Kanada'da 14 milyon dolar ve Amerika'da 600 milyon dolardan fazla kayıp olduğu tahmin edilmektedir (37).

## 2.9. Hypodermosis ve Konakçı İmmunolojisi

Myiasis'e neden olan larvalara karşı konakçıda oluşan immun yanıt, hayvanın genel sağlık durumu kadar larvanın biyolojisine, parazitizmin yerine, antijenlerin yapısına ve larvalara karşı oluşan spesifik immunolojik savunma mekanizmasına da bağlıdır.

Son 30 yılın üzerinde birçok araştırmacılar, doğal ve deneysel olarak enfeste edilmiş sığırlarda *Hypoderma* larvalarına karşı oluşan immun yanıtı araştırmışlardır (42). Bu araştırmalarda larvalar birinci dönemdeyken, larval enzimlerin konakçı immunitisini inhibe etmesinin bir sonucu olarak hiçbir yangı reaksiyonunun görülmediği saptanmıştır (41, 42).

Enfestasyondan sonra 4-8 hafta içinde anti-*Hypoderma* immunoglobülin (Ig) G molekülleri ortaya çıkmakta, enfestasyondan sonra yaklaşık 16-20. haftalarda en yüksek konsantrasyona ulaşmakta ve larvalar derialtı sırt dokusuna geldiklerinde de yavaş yavaş azalmaktadır. Antikor düzeyleriyle konakçının immun korunması arasında bir bağlantı olmamasına rağmen, bu antikorların tespiti erken immunolojik teşhis açısından önemli olmaktadır (42).

Deneysel olarak enfeste edilen sığırlarda göç döneminde, ilk yılda %67,7'den ikinci yılda %40,5 ve üçüncü yılda %43,0' a kadar hayatta kalan larva sayısında görülen azalmaya bağlı olarak hypodermosis'e karşı bir dayanıklılığın geliştiği gözlemlenmiştir. Nitekim ilk

enfestasyonda daha fazla sayıda larvanın olgunluğa erişmesi larvalara karşı spesifik cevabın henüz yeterli oluşmadığını göstermektedir (42).

Konakçı dokusundaki 6-8 aylık göç süresi zarfında birinci dönem *Hypoderma* larvaları tarafından üç büyük serin protaz sekre edilmektedir. Bu protazlar, tripsin yapısındaki hypodermin A (HA) ile hypodermin B (HB) ve kimotripsin yapısındaki hypodermin C (HC)'dir. Bunlar sadece larvaların konakçı dokusundaki göçünde ve konakçının immun yanıtının stimülasyonunda (HC) etkili olmakla kalmayıp, aynı zamanda spesifik ve nonspesifik konakçı immun yanıtından larvaların kaçmasında da etkili olurlar (HA ve HB) (41, 42).

HA ve HB düşük konsantrasyonlarda olduklarında bile ( $1-5 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) serumda bulunan komplementin üçüncü komponentinin  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirlerinin kopmasına neden olmaktadır. Komplementin yok edilmesi ilk kez enfeste olan sığırlarda larvaların çevresinde yangısal bir cevabın oluşmaması ve düşük düzeylerde bir lenfosit proliferasyonuna neden olmaktadır. Çünkü komplement sisteminin proteinleri immun yanıtın farklı safhalarında, lenfosit proliferasyonunda ve antijen-spesifik yanıtında büyük bir rol oynamaktadır (41, 42).

HA, hypodermosis'li hayvanlarda direkt olarak lenfosit proliferasyonu inhibisyonuna da katılmaktadır. Periferik mononükleer kan hücreleri proliferasyonu, ilk kez enfeste olan, reenfeste ve aşılana sığırlara HA enjekte edilmesiyle bozulmaktadır (16, 26). İn vivo ve in vitro ortamda HA tarafından periferik mononükleer kan hücre proliferasyonu inhibe edilmiştir ki bu da HA'nın spesifik hücreli immun cevabı azalttığını ve bellek immun mekanizmasının oluşumuna engel olduğunu göstermektedir (16). Periferik mononükleer kan hücre yanıtının azalması bu hücrelerin ölümüne atfedilemez, ancak başlangıç lenfosit blastogenesisinin bozulması ve periferik mononükleer kan hücreleri tarafından salınan interleukin-2'nin azalması, makrofajlarca üretilen ve güçlü bir anti-proliferatif molekül olan prostaglandinE2'nin aşırı salınımıyla bağlantılıdır. Ayrıca HA'nın nonaktif periferik mononükleer kan hücre reseptörleri üzerinde direk immunosupresif etkisi de bulunmaktadır (41, 42).

HA'ya benzemeyen HC, periferik mononükleer kan hücre proliferasyonunu inhibe etmez. ELISA ile değerlendirilen anti-HC antikörlerinin varlığı HC'nin yüksek bir immunojeniteye sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Böylece, immunolojik değerlendirmelerde en yaygın olarak kullanılan antijen HC olmaktadır (42).

## 2.10. Hypodermosis'e Karşı Yapılan Aşı Denemeleri

Genel olarak yaşı sığırların, 1 yaşına kadar olan genç sığırlardan daha az *Hypoderma* larvası taşıdığı ve bunun da bir bağışıklığa bağlı olduğu kabul edilmektedir. Bu gözlem, bir çok araştırmacılar için hypodermosis'e karşı sığırlara bağışıklık kazandırılabilceği fikrini cazip hale getirmiştir ve bu konuda çeşitli aşılama denemeleri yapılmıştır (2).

Bu denemelerden birinde, birinci dönem larvaların işlenmemiş ekstraktları veya yarı işlenmiş antiijenleriyle hazırlanan aşılama hypodermosis'e karşı hayvanların korunmasında kısmen etkiliyken, üçüncü dönem larvaların ekstraktlarından hazırlanan aşılama etkisiz bulunmuştur. Diğer bir denemede *H. lineatum*'un larval ekstraktı veya kültürlerden hazırlanan antiijenle *H. lineatum* ve *H. bovis*'e karşı buzağuların bağışık kılınabilirliği incelenmiştir. Bu çalışmada, larvalardan çıkarılan ekstraktla hazırlanan aşılama yeterli bir korunma sağlanamamasına rağmen, *Hypoderma* popülasyonu düzeyinde önemli bir azalma olduğu görülmüştür (2).

Son zamanlarda yapılan aşı denemeleri yalnızca HA veya HC ve HB ile farklı kombinasyonlarda kullanılarak yapılmaktadır. *H. lineatum* ve *H. bovis*'te bulunan HA'nın epitoplari ortaktır. HA ile buzağuların aşılamaında, kontrol grubundaki %88,5 oranındaki larval mortaliteyle karşılaştırıldığında, aşılama grubundaki oranın %98,5 olması açısından HA'nın yüksek bir koruma derecesi sağladığı kabul edilmektedir (42). Ancak diğer aşılama denemelerinde hypodermosis'e karşı aşılamaın tam bir koruma sağladığı kanıtlanamamıştır. Bu çalışmalardan birinde, HA, HB ve HC ile yalnız veya güçlü bir immunomodülatör olan monofosforil lipidle kombine edilerek bağışık kılınan buzağularda, güçlü bir hücresel ve humoral yanıt, aynı zamanda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında üçüncü dönem larva sayısında bir azalma gözlenmesine rağmen, enfestasyona karşı tam bir korunma sağlanamamıştır (1). Freund adjuvantıyla birlikte veya yalnız olarak enjekte edilen HA ile yapılan bir denemede ise, aşılama sığırlarla kontrol grubu arasında *Hypoderma* larvalarının canlı kalma oranları arasında bir fark gözlenmemiştir, ancak bu araştırmada da önemli derecede hücresel ve humoral yanıt oluşmuştur (17).

## 2.11. Teşhis

*Hypoderma* larvalarının varlığı, sonbahar, kış ve hatta ilkbahar mevsimleri döneminde enfeste hayvanların sırtında ikinci ve üçüncü dönem larvaların palpasyonu (klinik parazitolojik muayene) ya da karkasın iç organları ve derialtı dokularının muayenesiyle (postmortem muayene) tespit edilebilir (32). Ayrıca birçok ülkede değişik serolojik yöntemler kullanılarak da hastalığın teşhisi yapılmaktadır (25).

Hypodermosis'in teşhisi için ELISA tekniği kullanılarak yapılmış çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Teşhis kan serumuna (9, 10, 15, 36, 37, 38, 44, 48, 49) ya da süt örneklerine (9, 10, 44, 52) bakılarak yapılabilir.

### 2.11.1. Klinik Parazitolojik Muayene

Daha öncede klinik belirtiler kısmında bahsedildiği gibi sırt derisi altında bulunan üçüncü dönem larvalar, tüm sırt boyunca 2-3 adetten, 100-200 adete kadar varan sayılarda, 2.5-3 cm çapında, yarım küre seklinde ve orta kısımlarında bir delik bulunan şişkinlikler halinde görülür. Bu şişkinlikler iki yanından parmakla sıkıldığında, gri-sarımtırak renkte bir eksudat ile beraber *Hypoderma* larvası da dışarıya çıkar (60). Bu tür belirtiler bölgelere göre değişmekle birlikte Şubat ayı ile Haziran ayı arasında görülebilmektedir (55).

### 2.11.2. Postmortem Bulgular

*Hypoderma* larvalarının varlığını tespit etmek için spinal kanal ve / veya özefagusun tamamının iyice incelenmesi gereklidir. Hemoraji ve yangıyla birlikte, submukozal özefagus ödemli yoğun lezyonlar larvaların bulunduğu yerlerin çevresinde görülmektedir. Spinal kanaldaki lezyonlar ise hematoma, hemoraji, ödem ve larvaların burada yaptığı basınç sonucu oluşan nekroze alanlar olarak göze çarpar. Ayrıca 1 cm x 1-3 mm ölçüsünde olan larvalar özefagus duvarı, periözefagal doku ya da spinal kanal bölgelerinin muayenesi sonucu ortaya konulabilir (13).

### 2.11.3. Histopatoloji

Histopatoloji, lezyonların yoğun olduğu yerlerden alınan dokulardan yapılmaktadır. Bu lezyonlar; eozinofiller, makrofajlar, hemosiderin ve *Hypoderma* larvalarının varlığıyla karakterize olan hemoraji, ödem, özefagitis ve spinal kanal nekrozunu kapsamaktadır (13).

### 2.11.4. Serolojik Teşhis

Serolojik yöntemler, myiasis'e neden olan larvaların tespit edilmesi için, klinik parazitolojik ve postmortem muayeneye alternatif bir yöntem olarak geliştirilmiştir (42).

Direkt klinik muayenede enfeste hayvanların sırtında son dönem larvaların ortaya çıktığı periyot sonbahar, kış ve hatta ilkbahar dönemleridir. Bu yüzden bu dönemlerde hastalığın enfestasyon oranının doğru olarak elde edilebilmesi için birçok defa inspeksiyonla klinik parazitolojik muayene yapılmalıdır. Bu muayene sadece bir kez yapıldığı takdirde hastalığın prevalansı gerçek değerinden çok daha düşük bir değerde çıkmakta ve bu da yanıltıcı olmaktadır. Aynı zamanda klinik muayene, larvalar ancak son safhaya geldiklerinde yapılabilmektedir ki bu durum hastalığın tedavisi için çok küçük bir fırsat vermektedir (32).

Serolojik teşhis, canlı hayvanlarda larvalar vücut içinde göç halindeyken kolay ve etkili bir teşhis olanağı sağlamaktadır. Böylece, *Hypoderma* larvaları henüz ekonomik kayıplara neden olmadan zamanında sağaltım yapma ve büyük bölgelerde başlatılan eradikasyon programlarının ilerleyişini sağlıklı bir şekilde gözlemleme imkanı vermektedir.

Hypodermosis'in serolojik teşhisi için 1970'lerden beri bir çok çalışma yapılmaktadır. 1983 yılında Sinclair ve Wassall tarafından birinci dönem *H. lineatum* larvalarından çıkarılan bir antijen kullanılarak ELISA tekniği geliştirilmiştir. Birçok araştırmacı tarafından bu teknik değerlendirilmiş ve sensitivitesinin %94, spesifitesinin ise %98'den fazla olduğu ortaya konulmuştur (9, 32, 38, 42).

Hastalığın inspeksiyon periyodunda ELISA kullanılarak spesifik serum antikorlarını tespit etmek çok önemli olmamasına karşın, enfestasyonun ortaya çıkarılmadığı durumlarda, teşhis için iyi bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu yönüyle ELISA, özellikle eradikasyon programlarının başlatıldığı ülkelerde hastalığın durumunu gözlemlemede kullanılmıştır. Örneğin İngiltere'de 1978 yılında başlatılan eradikasyon programının ilerleyişini izlemek için 1988 yılında ELISA kullanılmaya başlanmıştır. Bu yılda 3087

çiftlikte bulunan 74,502 sığırdan elde edilen serumlar *H. bovis*'e karşı oluşan antikorların varlığını tespit etmek için test edilmiştir. Test sonuçlarına göre 18 çiftlikte toplam 29 hayvanın serumu pozitif çıkmıştır. Ayrıca bu çiftliklere yakın olan 108 tane komşu sürüdeki 6030 hayvandan alınan serumların da 17'sinde pozitiflik görülmüştür (59). 1991 yılının baharında ise yine İngiltere'deki 227,000 hayvanın serum örnekleri ELISA tekniğiyle test edilmiş ve hiçbir seropozitif hayvan gözlenmemiştir. Aynı zamanda bu yılda yapılan klinik incelemelerde hiç hypodermosis vakası da görülmemiştir (63). Yine 1995 yılı Kasım ayı ve 1996 yılı Şubat ayları arasında 2850 çiftlikte 100,400 sığır serumu test edilmiştir. Sadece 12'si şüpheli çıkan serum örnekleri, enfestasyonun eradike edildiği ve hypodermosis'in prevalansının düşük olduğu bölgelerde yanlış çıkan pozitif sonuçların önüne geçmek için İngiltere'de geliştirilen competitive ELISA (66) ile tekrar test edilmiştir. Test sonuçlarına göre de İngiltere'nin yerli sığır popülasyonunun tamamında seropozitif hayvan bulunmamıştır (65). Benzer bir inceleme 1996-97 yıllarının kış mevsiminde 5906 sürüden elde edilen 200153 serum örneği ELISA ile değerlendirilmiştir ve yine serumların hiç birinde pozitiflik gözlenmemiştir (32). 1992 yılı Şubat ayı ve 1993 yılı Mart ayları arasında İspanya'da da epidemiyolojik bir gözlem için 1668 sığır üzerinde klinik parazitolojik muayene ve ELISA tekniğiyle hypodermosis'e yönelik inceleme yapılmıştır. Klinik muayeneye göre hastalığın prevalansı %19,54 oranında çıkarken, ELISA tekniğiyle yapılan incelemede %42,3 olarak bulunmuştur (37).

Sonuç olarak, ELISA tekniği hypodermosis hastalığının teşhisinde hassas bir gösterge olduğundan, her bölgede hastalığın durumunun değerlendirilmesine, salgınların kontrol edilmesine ve ithal edilen sığırlarla ilişki içinde olan, hypodermosis'ten ari bölgelerin muhafaza edilmesine olanak vermektedir. Bununla beraber, *Hypoderma* larvaları hayvanların sağlığının bozulmasına ve ekonomik zararlara neden olmadan önce sonbahar mevsimindeyken, erken teşhise ve bu enfestasyona yönelik sağaltım uygulamasına geçilmesine imkan vermektedir (32, 37).

#### **2.11.4.1. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

İmmünoenzimatik reaksiyonların ilk temel prensipleri Engvall ve Perlmen tarafından 1971 yılında yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Yüksek derecede duyarlı ve kullanılan antijenin antikora özgüllüğü nedeniyle, bu reaksiyonlar çeşitli alanlarda teşhis



amacıyla kullanılmaktadır. Farklı hormonlar, serum proteinleri, bakteri, virüs ve parazitlerin antijenik yapıları ve çeşitli enfeksiyonlara karşı oluşmuş Immunoglobulin sınıfından antikorlar bu yöntemle kolayca ve güvenilir olarak tespit edilebilirler.

ELISA'nın temel prensibi, bir enzime bağlanmış antiglobulin kullanarak ortamdaki antijenle birleşen antikorların gösterilmesini sağlamaktır. Bu amaçla antijen, solid faz denilen, genellikle 96 çukurlu Polyesteryn mikropleytlere pasif biçimde adsorbe edilir. Bunun yanı sıra polyethylene veya nitroselüloz pleytler de kullanılmaktadır. Antijen adsorbe edilen ortama, içinde antikor olduğu düşünülen madde ilave edilir. Antikor antijenle birleşir yıkamayla bile ortamdan uzaklaşmaz. Antijenle birleşmeyen serum kompenentleri bu yıkamayla uzaklaşırlar. Ortamda antikor olup olmadığı, kullanılan antikor için hazırlanmış antijen-antikor veya antiglobulin yani konjugat kullanmak suretiyle anlaşılır. Antikor varsa konjugat antijen-antikor kompleksi ile birleşir. Genellikle horse redish peroksidaz, alkalın fosfataz, galaktosidaz enzimleri ile işaretlenmiş konjugatlardan yararlanılmaktadır. Antijen-antikor-konjugat kompleksine ilave edilen substratın enzimle oluşturacağı reaksiyon sonunda oluşan renge bakılarak sonuçlar çıplak gözle veya mikropleyt okuyucusunda okunarak değerlendirilir. Substrat olarak da 5-aminosalisilik asit, ortofenil-diamin (OPD), 2,2-azino-3-etil bentiozalin 6-sülfonat (ABTS), P-nitrofenil, o-tolidin-5-amino-2-hidroksibenzoik asit kullanılmaktadır (11, 12, 23, 29).

## 2.12. Hypodermosis ile Mücadele

*Hypoderma bovis* ve *H. lineatum* larvalarının neden olduğu sığır hypodermosis'i Kuzey yarımküre üzerinde geniş ölçüde yayılım göstermektedir. Bu enfestasyona karşı etkili insektisitler bulunmakla beraber, bunların kullanımları bireysel düzeyde olup, büyük sığır popülasyonlarını kapsamamaktadır. Tedavi edilmeyen hayvanlar hastalığın rezervuarı olarak kalmakta ve her yıl sığır popülasyonu tekrar enfeste olmaktadır. Bu hastalığın hayvansal üretim ve genel sığır sağlığı üzerindeki ekonomik etkileri bir çok Avrupa ülkesinde organize kontrol programlarının başlatılmasına neden olmuştur. Hypodermosis'e yönelik yapılan ilk kontrol uygulaması 100 yıl önce Danimarka'lı hayvan sahiplerinin enfeste hayvanların sırtındaki şişlikler içinde bulunan üçüncü dönem larvaların elle çıkarılması yoluyla Danimarka adalarından hypodermosis'i eradike ettikleri çalışmadır. Ondan sonra bir çok Avrupa ülkesi böyle programların uygulanabilirliğini ve ekonomik getirisini dikkate almıştır. Bu kontrol programlarını geliştiren çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bunlar arasında, biyolojik

faktörler (parazitlerin sadece sığırlara özgü olması, her iki *Hypoderma* türünün biyolojik siklusunun senkronize olması gibi), *Hypoderma* türlerinin birinci dönem larvalarına karşı düşük dozlarda yüksek etkiye sahip sistemik etkili ve yılda sadece bir kez kullanılan etkili insektisitlerin gittikçe gelişmesi, hypodermosis'in eradike edildiği ülkelerin gözlenmesi için hastalığın teşhisinde etkili tekniklerin geliştirilmesi ve Avrupa ülkelerinde elde edilen başarılı sonuçların devamının sağlanması gibi faktörler bulunmaktadır (8).

Eradikasyon programlarının etkili olması, parazitin biyoloji ve epidemiyolojisinin iyi bir şekilde bilinmesine, sığır popülasyonunun tamamında sağaltımın aynı zamanda yapılıp tamamlanmasına, bir ülkede hypodermosis sağaltımını zorunlu hale getirecek kanun hükümleri koyulmasına ve hastalıktan temizlenmiş bir duruma getirilen ülkede sağaltım kesilir kesilmez etkin bir epidemiyolojik inceleme yapılmasına bağlıdır. Böyle programların sağlık ve parasal açıdan getirileri çevre, tüketiciler ve çiftlik hayvanları üreticileri için yararlıdır (8).

Son yüzyılın ikinci yarısında, aynı etkiye sahip insektisitler bütün ülkelerde bulunmaktadır. 1960'lı yıllarda organik fosforlu bileşikler ve daha sonrada 80'li yıllarda anti-parazitik makrolitler piyasaya sunulmuştur. Bu moleküller tüm dünyada farklı parazitik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak sığır hypodermosis'inin kontrol stratejisi bölgelere bağlı olarak değişmektedir.

Hypodermosis'in kontrolünde iki tedavi stratejisi görülmektedir.

İlk durumda, hypodermosis'li sığırların sağaltımı hayvan sahipleri tarafından yapılmaktadır. Böyle bir durumda tedavi edilen her hayvan etkili bir şekilde iyileşmekte ve hastalığın bölgesel şiddeti bir dereceye kadar düşmektedir. Bu iyileşme görüldükten sonra bazı hayvan sahipleri hastalıkla artık ilgilenmemekte ve parazitik basıncın zooteknik etkileri her hayvandaki kazancı azaltmaya devam edebilmektedir. Diğer bazı üreticiler de, genelde en ağır şekilde enfeste olan genç sığırları hedefleyen bir sağaltımı dikkate almaktadırlar. Bu şekilde yapılan tedavilerde ortalama hypodermosis'li hayvan sayısı düşmekte, ancak sürü prevalansı (sürü içinde sadece bir sığır bile enfesteyse sürü enfeste olarak dikkate alınır) yüksek kalmaktadır. Genellikle hastalık yıldan yıla düşük olarak enfeste olan her sürüden tüm sığır popülasyonuna yayılmakta ve hayvan sahipleri hypodermosis'i uygun bir ekonomik düzeyde tutmak için her yıl tekrar tedavi yapmaya mecbur kalmaktadırlar. Bu tekrarlanan ilaç kullanımları da çevre kirliliğine, et ve sütte ilaç kalıntılarının birikmesine, parazitin ilaca

karşı direncinin gelişmesine ve hayvan sahipleri için tekrarlanan masrafların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (8).

Diğer durumda ise, hypodermosis'in kontrolü bölgesel ya da ulusal düzeyde koordine edilebilmektedir. *H. bovis* ve *H. lineatum* sığırların spesifik parazitidir ve bütün populasyonları yaz ve sonbahar mevsiminde endoparazitiktir. Bu yüzden büyük bir çaptaki sığır populasyonunun tamamının aynı zamanda sağaltılmasıyla bu hastalığın kontrolünün mümkün olacağı hesaba katılmalıdır. Bu şekilde yapılan kontrol programı etkili bir sağaltım koordinasyonu gerektirmektedir. Bunun için hayvan sağlıkçıları ve hayvan sahiplerinin birbirleriyle temas halinde olmaları gerekmektedir. Bunun yanı sıra bu programlar uygulandıktan sonra hastalığın tekrar ortaya çıkmasından kaçınmak için dikkatli bir inceleme yapılmalıdır. Çünkü her hypodermosis odağı çok hızlı bir şekilde yayılabilmektedir. Örneğin 1982 yılında İrlanda'nın Westmeath bölgesindeki 7 çiftlikte 32 enfeste sığır tespit edilmiştir. 1985 yılına kadar çok düşük bir prevalansla seyreden bu hastalığın sorun olmayacağı düşünüldükten sonra tedavi yapılmamıştır ve 3 yıl sonra hypodermosis'in 312 çiftlikte 2270 sığırdaki etkili olduğu görülmüştür (8).

### **2.12.1. Hypodermosis Mücadelesinde Kullanılabilecek Paraziter İlaçlar**

Ergin sineklerle savaş pratik ve ekonomik olmadığından dolayı hypodermoz mücadelesi göç dönemindeki larvalara karşı yapılmalıdır (24, 40).

Larvalarla mücadelede mekanik ve kimyasal yöntemler uygulanır. Mekanik mücadele, sırt derisi altında bulunan 2. veya 3. dönem larvaların elle sıkılarak öldürülmesi esasına dayanır. Olgunlaşmayan larvalar için ise bu yöntem başarısız kalır. Ayrıca bu işlem sırasında larvaların patlaması sınırlı bir yangıya, apse oluşumuna, hatta bazı hayvanlarda genel bir anaflaksiye bile yol açabilir. Bu yöntem tedavi açısından tatmin edici bir yöntem değildir (24, 60). Ayrıca sırt derisi altındaki larvaların solunum yapmasını engellemek için yağlı maddelerin sürülmesi de iyi sonuç vermektedir (24).

Kimyasal mücadele, sonbaharda göç halindeki 1. dönem larvalara ve ilkbaharda ise sırt derisi altındaki 2. ve 3. dönem larvalara karşı yapılır. Bunun için trichlorphon'un (neguvon, koguvon) %2' lik solüsyonu banyo veya püskürtme tarzında, %10' luk solüsyonu ise 50-75 mg / kg dozda per os olarak kullanılır (24).

Avermectin grubu insektisitlerden ivermectin ve doramectin 200 mcg / kg dozda (1 ml / 50 kg) deri altı yolla (s.c) enjekte edilir (24, 47). Ayrıca moxidectin'in % 0,5'lik

solusyonu 0,5 mg / kg dozda dökme (pour-on) şeklinde (35) ya da %1'lik solusyonu 0,2 mg / kg dozda deri altı yolla enjekte edilir (7).

Sonbahar ilaçlamasına rağmen sırt derisi altına ulaşan larvalara karşı ilkbaharda ikinci bir mücadele yapılmalıdır. İlkbahar ilaçlamasında, organik fosforlu insektisitlerden fenthion'un (tiguvon) %2'lik solusyonu 5-10 mg / kg dozda dökme (pour-on), %20'lik solusyonu 2,5 ml / 100 kg dozda spot-on şeklinde kullanılır (24).

Hypodermosis mücadelesinde, *H. bovis* larvalarının canalis vertebraliste bulunduğu dönemde ilaçlama yapılmamalıdır. Aksi takdirde spinal kanalda ölen larvaların toksik etkilerine bağlı olarak hayvanlarda anaflaktik şok görülebilir (24, 34, 40, 60).

Hypodermosis mücadelesinde sonbahar ilaçlaması ile deri, et ve süt veriminde meydana gelebilecek zararlar büyük oranda azaltılmış veya ortadan kaldırılmış olur. İlaçlamaya rağmen sırt derisine ulaşabilen larvalarla mücadele ile ergin sineklerin ortadan kaldırılmaları ve daha sonraki yıllarda larva sayısının azaltılabilmesi mümkündür (24, 40).

### **2.13. Korunma**

Sineklerin uçtuıkları mevsimde sabah saat 10'dan akşam 5'e kadar, sığırlar gölgelik yerlerde tutulmalıdır. Çünkü gölgede bulunan ya da suya girmiş olan sığırlar üzerine sinekleri yumurtlamazlar. Bu uygulama ile ergin sineklerin biyolojileri tamamlanamayacağı için, bir sonraki yıl ergin sinekler ortaya çıkamayacaktır. Ayrıca, bu dönemde hayvanlar sık sık tımar edilerek kıllar üzerine yumurtlanan yumurtalar uzaklaştırılmalıdır (24, 40).

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Hayvan Materyali**

Bu çalışmada, Şanlıurfa Merkez, Suruç, Siverek, Viranşehir ve Akçakale ilçelerine 2003 yılı Eylül-Aralık döneminde gidilerek hayvan barınaklarından rasgele seçilmiş toplam 300 sığırdan kan örnekleri alındı. Örnek alınan hayvanların 100'ü Holstein, Simmental ve Montofon ırklarından, 200'ü ise melez ırklardan, 150'si dişi, 150'si erkek ve 124'ü bir yaşın altında 176'sı ise bir yaşın üstündeki hayvanlardan oluşmaktaydı

Kan örnekleri her odaktan 60'ar adet olmak üzere alındı.

#### **3.2. Kan Serumlarının Elde Edilmesi ve Muhafazası**

Belirtilen odaklara gidilerek hayvanların yaş, ırk ve cinsiyetleri kaydedildi ve vena jugularisinden vakumlu cam tüplere 10 ml kan alınıp, protokol numarası verilerek örnekler laboratuvara getirildi. Laboratuvarda 3000 RPM'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Elde edilen bu serum örnekleri plastik mikrotüplere aktarılıp, numara verilerek testler yapıncaya kadar - 20°C'de derin dondurucuda saklandı.

Çalışmada, ticari ELISA test kiti (ELISA Hypodermosis Bovine Serum Screening, Version: P0611/08) kullanıldı ve test prosedürüne uygun olarak testler yapıldı.

#### **3.3. Testin Yapılışı**

##### **3.3.1. Serumların Yerleştirilmesi**

Prospektüse uygun olarak önce negatif ve pozitif kontrol serumları 0.5 ml distile suyla sulandırıldı. Daha sonra platelerin her gözüne 190 µl "dilution buffer 2" solusyonu konuldu. Bu işlemi takiben bir göze 10 µl negatif kontrol serumu, bir göze 10 µl pozitif kontrol serumu ve diğer gözlere ise yine 10 µl olmak üzere serum örnekleri bırakıldı. Plate, ELISA okuyucusunda karıştırıldıktan sonra alüminyum folyo ile sarılarak 37°C (± 3°C)'de 1 saat inkübe edildi.

### **3.3.2. Yıkama**

1. Konsantre yıkama solusyonundan 100 ml alınıp 1900 ml distile suyla karıştırılarak yıkama solusyonu hazırlandı.

2. İnkübasyon süresi sonunda plate içindeki sıvılar döküldü ve her gözün içine üç kez yıkama solüsyonu konulup dökülerek yıkama gerçekleştirildi.

3. Yıkama işlemi bittikten sonra plate, düz bir zemine serilmiş kağıt havlular üzerine hafif darbelerle vurularak kurutuldu.

### **3.3.3. Konjugatın Konulması**

1. Konjugat 1/100 oranında “dilution buffer 1” solusyonuyla dilüe edildi.

2. Kullanıma hazır hale getirilen konjugattan her bir göze 100 µl konuldu.

3. Plate alüminyum folyo ile sarılarak 37°C ( $\pm 3^\circ\text{C}$ )’de 30 dakika inkübe edildi.

### **3.3.4. Yıkama**

Yıkama işlemi daha önce belirtildiği gibi usulüne uygun olarak tekrarlandı.

### **3.3.5. Reaksiyonların Açığa Çıkarılması**

1. Her bir göze kullanıma hazır “revelation solution 3” konuldu.

2. Plate 21°C ( $\pm 5^\circ\text{C}$ )’de ışıktan uzakta 20 dakika inkübe edildi.

3. 20 dakika sonunda her bir mikroplate’e 100 µl “stop solution”undan konuldu.

### 3.3.6. Okuma

Okuma işlemi otomatik bir mikropate okuyucusunda (Molecular Devices VERSAmax), 450 nm dalga boyunda gerçekleştirildi. Test sonucunda optikal dansitesi okunan örneklerin % inhibisyon değerleri test prosedüründe bildirilen formülle hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 \times \frac{(\text{Örneğin Optikal Yoğunluğu (O.D)} - \text{Negatif kontrol (O.D)})}{(\text{Pozitif kontrol (O.D)} - \text{Negatif kontrol (O.D)})}$$

Yukarıda belirtilen formüle göre yapılan hesaplama sonucunda test örneği % inhibisyon değeri  $\leq$  % 45 ise sonuç negatif,  $\geq$  % 55 ise de sonuç pozitif olarak kabul edildi.

Test sonuçlarına ilişkin istatistiksel analizler Statistical Packet for Social Sciences (SPSS) programında  $\chi^2$  testi ile yapıldı.

#### 4. BULGULAR

Şanlıurfa yöresinde ELISA ile hypodermosis yönünden incelenen 300 sığırın 116 (%38,6)'sı seropozitif bulundu. Örneklerin alındığı odaklara göre seropozitifliğin dağılımı Tablo 1'de verilmiştir. Tablo 1'de görüldüğü gibi Şanlıurfa Merkez, Viranşehir, Siverek, Suruç ve Akçakale olmak üzere 5 yerleşim biriminin her birinden alınan 60 serum örneğine bakıldığında, Şanlıurfa Merkez'de 22 (%36,6), Viranşehir'de 42 (%70), Siverek'te 27 (%45), Suruç'ta 18 (%30) ve Akçakale'de ise 7 (%11,6) hayvanda seropozitiflik tespit edildi. Seropozitifliğin odaklara göre dağılımına bakıldığında, belirtilen oranlara göre Viranşehir ve Akçakale ile diğer odaklar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunurken ( $P<0.001$ ), Şanlıurfa Merkez, Siverek ve Suruç arasında önemli bir farklılık olmadığı görüldü.

**Tablo 1.** Sığırlarda Seropozitifliğin Odaklara Göre Dağılımı

Yerleşim Birimleri	Seropozitif Hayvan Sayısı (%)	Seronegatif Hayvan Sayısı (%)	Toplam
Merkez	22 (%36,6) <sup>a</sup>	38 (%63,4)	60
Viranşehir	42 (%70) <sup>b</sup>	18 (%30)	60
Siverek	27 (%45) <sup>a</sup>	33 (%55)	60
Suruç	18 (%30) <sup>a</sup>	42 (%70)	60
Akçakale	7 (%11,6) <sup>c</sup>	53 (%88,4)	60
Genel	116 (%38,6)	184 (%61,4)	300

Aynı sütunda değişik harfler (a, b, c) taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir ( $P<0.001$ ).

İrklara göre yapılan değerlendirmede, kültür ırkı 100 sığırın 16 (%16)'sında ve 200 melez sığırın 100 (%50)'ünde seropozitiflik saptandı. Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre kültür ırkındaki seropozitiflik oranı ile melez ırklar arasındaki oranlarda önemli bir fark olduğu belirlendi ( $P<0.001$ ) (Tablo 2).



**Tablo 2.** Sığırlarda Seropozitifliğin Irklara Göre Dağılımı

<b>İrk</b>	<b>Seropozitiflik Oranı</b>	<b>Seronegatiflik Oranı</b>	<b>Toplam</b>
<b>Melez İrk</b>	100 (%50)**	100 (%50)	200
<b>Kültür İrki</b>	16 (%16)**	84 (%84)	100
<b>Genel</b>	116 (%38,6)	184 (%61,4)	300

\*\* : (P < 0.001).

Hayvanlarda yaş ile seropozitiflik oranı açısından bakıldığında, 6 aylıktan 1 yaşına kadar olan 124 hayvanın 38 (%30,6)'i, 1 yaş ve üzeri olan 176 hayvanın da 78 (%44,3)'inde seropozitiflik görüldü. Bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.01) (Tablo 3).

**Tablo 3.** Sığırlarda Seropozitifliğin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

<b>Yaş</b>	<b>Seropozitiflik Oranı</b>	<b>Seronegatiflik Oranı</b>	<b>Toplam</b>
<b>≥12 ay</b>	78 (%44,3) **	98 (%55,7)	176
<b>6-11 ay</b>	38 (%30,6) **	86 (%69,4)	124
<b>Genel</b>	116 (%38,6)	184 (%61,4)	300

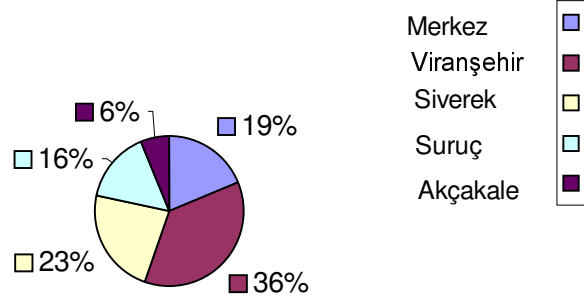
\*\* : P < 0.01

Cinsiyete göre yapılan değerlendirmede, test edilen 150 dişi sığırın 56 (%37,3)'sında, 150 erkek sığırın ise 60 (%40)'ında seropozitiflik tespit edildi. Yapılan istatistiksel değerlendirmede bu oranlar arasında önemli bir fark olmadığı görüldü (Tablo 4).

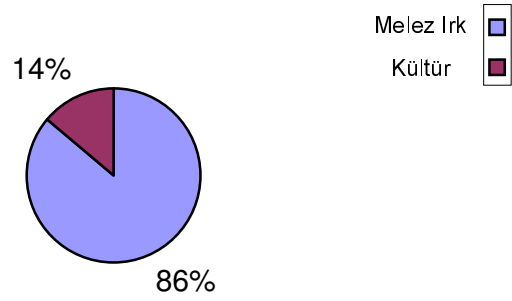
**Tablo 4.** Sığırlarda Seropozitifliğin Cinsiyete Göre Dağılımı

<b>Cinsiyet</b>	<b>Seropozitif Hayvan Sayısı (%)</b>	<b>Seronegatif Hayvan Sayısı (%)</b>	<b>Toplam</b>
<b>Dişi</b>	56 (%37,3)	94 (%62,7)	150
<b>Erkek</b>	60 (%40)	90 (%60)	150
<b>Genel</b>	116 (%38,6)	184 (%61,4)	300

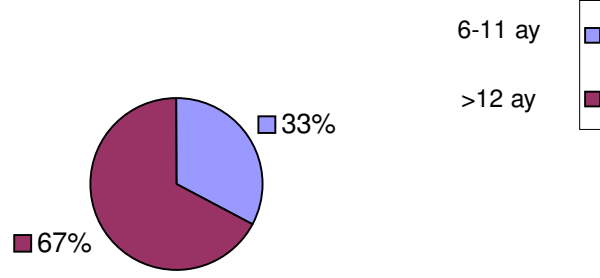
**Grafik 1. Seropozitifliğin Odaklara Göre Dağılımı**



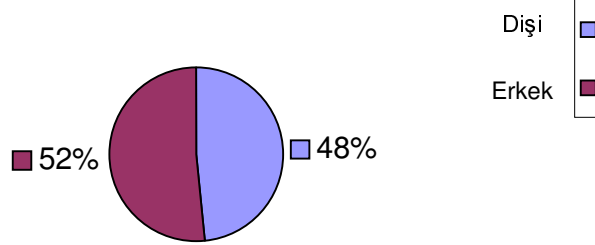
**Grafik 2. Seropozitifliğin Irklara Göre Dağılımı**



**Grafik 3. Seropozitifliğin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı**



**Grafik 4. Seropozitifliğin Cinsiyete Göre Dağılımı**



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Türkiye hayvancılığında sığıır yetiştiriciliğı önemli bir yer tutmaktadır. Hayvancılıkta amaçlanan ekonomik fayda, hayvanlardan elde edilen ürünlerin maksimum düzeyde alınması ile sağlanabilmektedir. Sığıır yetiştiriciliğinde, hayvanların et, süt ve deri verimlerini amaçlanan hedefin altındaki düzeylere düşüren paraziter bir hastalık olan hypodermosis önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. *Hypoderma* larvalarıyla enfeste olan sığıırların et ve süt verimleri düşmekle birlikte, bu larvaların deride açtıkları delikler sonucu deri kullanılamaz hale gelmektedir. Hatta *Hypoderma* larvalarıyla enfeste olan hayvanların bazılarında, paraliz ve anaflaktik şoktan dolayı ölümler bile gözlenebilmektedir. Bu yüzden hem yetiştiriciler hem de ülke ekonomisi olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu tip kayıpların en aza indirilebilmesi için hastalığın yaygınlığının ortaya konulması ve enfeste hayvanlar üzerindeki olumsuz etkileri ortaya çıkmadan teşhisinin yapılması hastalığa karşı önlem alınması açısından önemlidir.

*Hypoderma lineatum*'un birinci dönem larvalarından ekstrakte edilen, antijenik özelliğı *H. bovis*'in antijenine de benzeyen kollagenazın ortaya çıkarılmasından bu yana insan veya sığıırlarda hypodermosis'i tespit etmek için çeşitli serolojik testler geliştirilmiştir. *Hypoderma* enfestasyonunun erken teşhisi, insan veya tavşan serumlarıyla immunodiffüzyon, sığıır veya insan serumlarıyla da hemagglütinasyon testinin yapılmasıyla mümkün olmuştur (9). 1983 yılında ise Sinclair I.J. ve Wassall D.A. tarafından (58) birinci dönem *H. lineatum* larvalarından çıkarılan antijen kullanılarak ELISA tekniğı geliştirilmiştir. Birçok araştırmacı tarafından bu teknik değerlendirilmiş ve sensitivitesinin %94, spesifitesinin ise %98'den fazla olduğı ortaya konulmuştur (9, 38, 42). Son zamanlarda Western blott tekniğinin de *Hypoderma* enfestasyonunun teşhisinde kullanılabileceğı de belirtilmektedir. Bolbaatar D. ve ark. (6) Western blot ve ELISA tekniğıyle eş zamanlı olarak inceledikleri serumlarda pozitiflik ve negatiflik değerlerinin her iki testte de aynı çıktığını belirtmişlerdir. Ancak son zamanlarda ELISA, büyük çaptaki immunoepidemiolojik incelemeler için toplu süt veya serum aynı zamanda ticari süt örnekleri üzerinde de uygulanabilmektedir. Ticari süt örnekleri üzerinde uygulanabilen ELISA testi basit olması, hızlı bir şekilde yapılabilmesi ve fiyatının da uygun olması gibi birçok avantajlara sahiptir. Bu nedenle hypodermosis'e yönelik yapılan

epidemiyolojik gözlem ve eradikasyon programlarında hassas bir test olan ELISA günümüzde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (44, 52).

Direkt klinik muayenede enfeste hayvanların sırtında son dönem larvaların ortaya çıktığı periyot sonbahar, kış ve hatta ilkbahar dönemleridir. Bu yüzden bu dönemlerde hastalığın enfestasyon oranının doğru olarak elde edilebilmesi için birçok kez inspeksiyonla klinik parazitolojik muayene yapılmalıdır. Bu muayene sadece bir kez yapıldığı takdirde hastalığın prevalansı gerçek değerinden çok daha düşük bir değerde çıkmakta ve bu da yanıltıcı olmaktadır (32). İspanya'da 1992 Şubat ve 1993 Mart tarihleri arasında yapılan epidemiyolojik bir gözlem de 1668 sığır üzerinde klinik parazitolojik muayene ve ELISA tekniğiyle hypodermosis'e yönelik inceleme yapılmıştır. Klinik muayeneye göre hastalığın prevalansı, %19,54 oranında çıkarken, ELISA tekniğiyle yapılan incelemede ise seropozitiflik %42,3 olarak bulunmuştur (37). Yine İtalya'nın kuzeyinde klinik parazitolojik muayeneye yapılan bir araştırmada hypodermosis'in prevalansı %16,7 olarak bulunurken (51), aynı bölgede ELISA tekniğiyle gerçekleştirilen başka bir araştırmada (52), seropozitiflik %43,3 olarak bulunmuştur. Kanada'da Van Donkersgoed J. ve ark.nın (64), klinik parazitolojik incelemeyle elde ettikleri sonuçlara göre hypodermosis'in yaygınlığı %0,02 iken, Colwell D.D.'in (20) yaptığı ve diğer serolojik araştırmalara göre bu oran %0-95 arasında değişmektedir. Yapılan bu araştırmada da hypodermosis'in seroprevalansını belirlemek üzere ticari ELISA test kiti kullanıldı. Serolojik ve klinik parazitolojik inceleme ile ortaya çıkan oranlar arasındaki bu farklılıklar, göç halindeki birinci dönem larvaların konakçının immun yanıtına bağlı olarak öldürülmüş olmasına, kış mevsiminde parazit popülasyonunun doğal bir kayba uğramasına ve yavaş bir öldürme mekanizmasına sahip olan avermektinlerin yaygın olarak kullanılmasından dolayı sağaltımdan sonra bile kanda antikorların varlığını sürdürmesine bağlı olabilir. Bu nedenle saha şartlarında, ortaya çıkan seropozitiflik hypodermosis'in prevalansı ile bağıntılıdır, ancak hayvanların klinik durumuyla direkt olarak ilgili değildir (32, 59).

Hastalığın inspeksiyon periyodunda ELISA kullanılarak spesifik serum antikorlarını tespit etmek çok önemli olmamasına karşın, enfestasyonun ortaya çıkarılmadığı durumlarda, teşhis için iyi bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu yönüyle ELISA, eradikasyon programlarının başlatıldığı ülkelerde hastalığın durumunu gözlemlenmede kullanılmıştır. Örneğin İngiltere'de 1978 yılında başlatılan eradikasyon programının ilerleyişini izlemek için 1988 yılında ELISA kullanılmaya başlanmıştır. Aynı yıl 3087

çiftlikte bulunan 74,502 sığırdan elde edilen serumlar *H. bovis*'e karşı oluşan antikorların varlığını tespit etmek için test edilmiştir. Test sonuçlarına göre 18 çiftlikte toplam 29 hayvanın serumu pozitif çıkmıştır. Ayrıca bu çiftliklere yakın olan 108 tane komşu sürüdeki 6030 hayvandan alınan serumların da 17'sinde pozitiflik görülmüştür (59). 1991 yılının baharında ise yine İngiltere'deki 227,000 hayvanın serum örnekleri ELISA tekniğiyle test edilmiş ve hiçbir seropozitif hayvan gözlenmemiştir. Aynı zamanda bu yılda yapılan klinik incelemelerde hypodermosis vakası da görülmemiştir (63). Yine 1995 yılı Kasım ayı ve 1996 yılı Şubat ayları arasında 2850 çiftlikte 100,400 sığır serumu test edilmiştir. Sadece 12'si şüpheli çıkan serum örnekleri, enfestasyonun eradike edildiği ve hypodermosis'in prevalansının düşük olduğu bölgelerde yanlış çıkan pozitif sonuçların önüne geçmek için İngiltere'de geliştirilen competitive ELISA (66) ile tekrar test edilmiştir. Test sonuçlarına göre de İngiltere'nin yerli sığır popülasyonunun tamamında seropozitif hayvan bulunmamıştır (65).

*Hypoderma* enfestasyonundan 4-8 hafta sonra, kanda oluşan antikorlar tespit edilebilecek düzeye gelir ve üçüncü dönem larvaların hayvanların sırtında görünmesinden 14 hafta sonrasına kadar teşhis edilebilecek düzeyde kalmaya devam eder (38, 57). Bu nedenle hypodermosis'in serolojik teşhisinde örneklerin alınma zamanı önemlidir. Bu zaman ülkelere göre değişmektedir, örneğin, Kuzey Avrupa'da (10) bu zamanın Ekim ayı sonundan Şubat ve Mart aylarına kadar olan süreçte, Fransa'da ise Boulard C. ve Villejoubert C.'in yapmış oldukları serolojik bir çalışmada (9) Şubat ve Mart aylarında hypodermosis'e karşı oluşan antikor seviyesinin çok yüksek olduğu ve bu dönemlerin örnek almak için uygun zaman olduğu ifade edilmiştir. Polonya'da Cencek T. ve Ziomko I. tarafından yapılan bir incelemede ise (15) Mart, Nisan ve Mayıs aylarının en iyi örnekleme zamanı olduğu ortaya çıkarılmıştır. Batı İspanya'da Martinez-Moreno J. ve ark. (37) enfeste hayvanlarda hypodermosis'e karşı biri Şubat - Mart, diğeri de Eylül ayında olmak üzere iki dönemde oluşan antikorların maksimum seviyeye ulaştığını tespit etmişler ve bu dönemlerin örnekleme açısından en uygun dönemler olacağını ifade etmişlerdir. Türkiye'de bölgelere göre yapılan epidemiyolojik çalışmada (55), da bahsedildiği gibi *Hypoderma* sineklerinin sığırların kıllarına bıraktıkları yumurtalardan çıkan larvaların Temmuz-Eylül ayları arasında deriyi delerek derialtı dokusuna girdikleri belirtilmiştir. Bu çalışmada, enfestasyondan 4-8 hafta sonra kanda oluşabilen antikorları tespit etmek amacıyla, bölgenin iklimi de gözönüne alınarak hayvanlardan Eylül-Aralık döneminde kan alındı.

Türkiye'deki sığırlarda hypodermosis'in yaygın olduğu bildirilmektedir. Sayın F. ve ark. (54), Orta ve Doğu Anadolu'da yaptıkları klinik parazitolojik bir incelemeyle 26500 sığırın 5928'ini enfeste bulmuşlardır. Celep A. ve Gürsoy S. (14) Samsun yöresinde 1500 sığırın %55'ini, Samsun ve Amasya yöresinin altı farklı bölgesindeki sığırların incelenmesiyle de %57,8'ini klinik olarak enfeste bulmuşlardır. Trakya bölgesinde Gülanber A. ve ark. (27) tarafından 365 sığır üzerinde yapılan incelemede enfestasyon yaygınlığı %3,56, enfestasyon yoğunluğu ise %10,2 olarak tespit edilmiştir. Yine Sayın F. ve ark.nın (55) Türkiye'nin bütün coğrafik bölgelerinde yaptıkları klinik parazitolojik bir incelemeye göre, *Hypoderma* enfestasyonu yaygınlığının Karadeniz'de %28,3, Marmara'da %28,0, Ege'de %41,6, Akdeniz'de %33,0, İç Anadolu'da %38,9, Doğu Anadolu'da %41,9, Güneydoğu Anadolu'da %47,8 olduğu görülmüştür.

Dünyanın farklı bölgelerinde hypodermosis'in yaygınlığını ELISA tekniği ile serolojik olarak inceleyen çeşitli araştırmalar da bulunmaktadır. İtalya'nın güney bölgelerinde bu teknikle yapılan bir araştırmada, hastalığın yaygınlığı %85 olarak bulunmuştur (50). Lonneux J.F. ve ark. (36) 1990-91 yılları arasında Belçika'da 1344 sığır serumunu ELISA tekniğini kullanarak araştırmışlar ve bunun 1135'ini yani %86,4'ünü hastalık yönünden pozitif olarak bulmuşlardır. Aynı teknikle Lüksemburg'da 1230 serum üzerinde yaptıkları çalışmada %43 oranında bir sonuç elde etmişlerdir. Masrtinez-Moreno J. ve ark. (37) tarafından 1992-93 yılları arasında Batı İspanya'da direk klinik muayene ve ELISA tekniğini kullanarak 1668 sığır üzerinde hastalığın prevalansı araştırılmış ve sonuçlar, direk klinik muayenede %19,5, ELISA ile yapılan araştırmada ise %42,3 olarak bulunmuştur. Papadopoulos E. ve ark. (49) 1996 yılında Yunanistan'ın farklı bölgelerinden topladıkları 4200 sığır serumunu kullanarak yapmış oldukları serolojik çalışmada ise ortalama %37,4 ve bölgeden bölgeye %0,7-78,8 arasında değişen oranlarda sepozitiflik tespit etmişlerdir. Colwell D.D. (20), Kanada'nın batısında biri hypodermosis'e karşı terapotik kontrol altında olan, diğeri ise hiçbir sağaltım uygulanmayan iki büyük çiftlikte hypodermosis'in seroprevalansını araştırmış ve paraziter sağaltım yapılan çiftlikte prevalansın %8,0-73,3, sağaltım uygulaması yapılmayan çiftlikte ise %76,5-99,0 oranında, Kanada'nın güney bölgesinde yaptığı diğeri bir araştırmayla da (21) %37 oranında seropozitiflik olduğunu ifade etmiştir. Ragelbono A.F. ve ark.nın (52) İtalya'nın kuzeyinde yapmış oldukları serolojik bir araştırmaya göre enfestasyon yaygınlığının %43,3 oranında olduğunu bildirmişlerdir. Haine D. ve ark. (30) tarafından Belçika'daki 390 sığır sürüsü üzerinde yapılan incelemede de

prevalansın %48,7 olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise serolojik olarak ELISA ile incelenen 300 sığırın 116'sı (%38,6) seropozitif bulundu.

*Hypoderma* enfestasyonlarına karşı ırklar arasında duyarlılık farkının olup olmadığı bazı çalışmalarda araştırılmıştır. Colwell D.D. (20) tarafından yapılan bir çalışmada, ırklar arasında hastalığa karşı olan duyarlılıkta bir fark görülmemiştir. Bu da *Hypoderma* sineklerinin ovipozisyon için herhangi bir ırk seçiciliğinin olmadığı yorumuyla açıklanmıştır. Buna karşın bazı ırkların daha fazla sayıda *Hypoderma* larvası taşıdığını belirten araştırmalarda bulunmaktadır (3, 46). Charbon J.L. ve ark. (18) tarafından yapılan bir incelemede de derisi ince olan hayvanların daha ağır bir şekilde enfeste olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmada ise melez ırklardaki seropozitiflik oranlarının (%50) kültür ırkında tespit edilen seropozitiflik oranından (%16) önemli derecede yüksek olduğu görüldü. Bu durumun bakım koşullarıyla ilgili olduğu düşünülebilir. Kültür ırkı hayvanlar genellikle kapalı mekanlarda barındırılmakta ve paraziter sağaltımları düzenli bir şekilde yapılmaktadır. Ancak melez ırklara ait çoğu hayvan yaz mevsimi süresince meraya çıkarılmakta ve paraziter sağaltımlarına da pek fazla önem verilmemektedir. Bunun yanı sıra bazı yetiştiriciler tarafından 1 yaşın altındaki çoğu melez hayvan sağlık durumu kontrol edilmeden çeşitli bölgelerden toplanarak yöreye getirilmiştir.

Martinez-Moreno J. ve ark. (37), Batı İspanya'da hypodermosis'in epidemiyolojisi üzerine yaptıkları bir araştırmada, 1 yaşın üstünde olan sığırlarda *Hypoderma* larvalarına karşı oluşan antikor miktarının, 1 yaşın altında olan genç hayvanlardakinden daha yüksek seviyede olduğunu belirtmişlerdir. Robertson R.H.'in (53) yapmış olduğu bir araştırmada da daha önce enfeste olmuş hayvanların yüksek bir preenfestasyon titresine sahip oldukları ve tekrar eden yeni bir enfestasyonun başlangıcındaki ilk 30 günde ise antikor yanıtının belirgin bir pik yaptığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ise 1 yaşın üstündeki hayvanlarda seropozitiflik oranının 1 yaşın altındaki hayvanlardan daha yüksek olduğu tespit edildi. Bunun da daha önce enfestasyonu geçirmiş hayvanların vücudunda bulunan rezidüel antikorlara bağlı olarak ortaya çıktığı sanılmaktadır. Ayrıca, bir yaş altındaki hayvanların ve *Hypoderma* sineklerinin aktif olduğu aylarda meraya çıkmamış oldukları düşünülebilir.

*Hypoderma* enfestasyonunun yayılışı ile coğrafik bölgeler arasında görülen farklılık yetiştirme yöntemlerine bağlı olabilir. Yapılan bazı araştırmalarda, *Hypoderma* sineklerinin aktif olduğu yaz mevsimi süresince meraya çıkarılan hayvanlarda *Hypoderma* enfestasyonuna yakalanma riskinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (44, 52). Yapmış



olduğumuz çalışmada Viranşehir’de toplu halde meraya çıkarılan hayvanlarda seropozitiflik oranının diğer odaklara göre daha yüksek, meraya ıkarılmayıp ta kapalı yerde tutulan Akçakale’deki hayvanlarda ise seropozitifliğin düşük çıkması literatür bilgileriyle uyum sağlamaktadır.

Sonuç olarak, şanlıurfa yöresindeki sığırlarda hypodermosis’in yaygın olarak görüldüğü ve bu yaygınlığın *Hypoderma* sineklerinin aktif olduğu yaz mevsimi döneminde hayvanların meraya çıkarılması ve paraziter sağaltımın düzenli bir şekilde yapılmamasıyla arttığı kanaatine varıldı.

## 6. KAYNAKLAR

1. Baron RW, Colwell DD. Enhanced resistance to cattle grub infestation (*Hypoderma lineatum* de Vill.) in calves immunized with purified hypodermin A, B and C plus monophosphoryl lipid A (MPL). *Vet. Parasitol.* 1991;38 (2-3):185-197.
2. Baron RW, Weintraub J. Immunization of Cattle Against Hypodermatosis (*Hypoderma lineatum* (De Vill.) and *H. bovis* (L.)) Using *Hypoderma lineatum* Antigens. *Vet. Parasitol.* 1986;21:43-50.
3. Benakhla AC, Boulard C, Sedraoui S, Oussaid F. L'hypodermose bovine: approche epidemiologique et caracterisation du cycle biologique en vue de l'establissement d'un plan de proflaxie dans le nord est Algerien. *Rev. Med. Vet.* 1993;144:693-700.
4. Benakhla A, Jemli M, Sahibi H, Boulard C. Bovine Hypodermosis in Maghreb. [http:// www. Tours. Inra. fr / tours / pap](http://www.tours.inra.fr/tours/pap), Erişim tarihi: 19.04.2003
5. Benakhla A, Lonneux JF, Mekroud A, Losson B, Boulard C. Bovine hypodermosis in north-eastern Algeria: Prevalence and intensity of infestation. *Vet. Res.* 1999;30(5):539-545.
6. Boldbaatar D, Xuan X, Kimbita E, Huang X, Igarashi I, Byambaa B, Battsetseg B, Battur B, Battsetseg G, Batsukh Z, Nagasawa H, Fujisaki K, Mikami T. Detection of antibodies to *Hypoderma lineatum* in cattle by Western blotting with recombinant hypodermin C antigen. *Vet. Parasitol.* 2001;99:147-154.
7. Boulard C, Banting AL, Cardinaud B. Activity of moxidectin %1 injectable solution against first instar *Hypoderma spp.* in cattle and effects on antibody kinetics. *Vet. Parasitol.* 1998;77:205-210.
8. Boulard C. Durably controlling bovine hypodermosis. *Vet. Res.* 2002;33:455-464.
9. Boulard C, Villejoubert C. Use of pooled serum or milk samples for the epidemiological surveillance of bovine hypodermosis. *Vet. Parasitol.* 1991;39:181-183.

10. Boulard C, Villejoubert C, Chabudie N, Hernandez S (ed.), Gasca A (ed.), Martinez J (ed.), Pithan K. Immuno-epidemiological survey of bovine hypodermosis. Improvements in control methods for warble-fly in cattle and goats: workshops held in Cordoba 8 to 10 May 1991. 1992;101-113.
11. Brock TD, Madigan MT. ELISA and Radioimmunoassay Clinically Useful ELISA Test in Biology of Microorganisms. 6<sup>th</sup> ed., New Jersey, 1991.
12. Brooks FG, Butel SJ, Ornston NL, Javetz E, Melnick IJ, Adelberg AE. Medical Microbiology. USA. 1991.
13. Brown JR. Diagnosing The Hypoderma Reaction. [http:// us. Merial. Com / Pdf / page](http://us.merial.com/pdf/page), Erişim tarihi: 22.04.2003.
14. Celep A, Gürsoy S. Samsun ve Amasya yöresi sığırlarında hypodermosis'in yayılış nisbeti, nokra larvalarının dönemlerine göre sığırlarda kalış zaman ve sürelerinin tesbitine dair araştırmalar. Etlik. Vet. Mikrob. Enst. Derg., 1987;6(1):143-150.
15. Cencek T, Ziomko I. Optimal Time for Serologic Diagnosis Regions of Poland. Bull. Vet. Inst. Pulawy. 2002;46:59-63.
16. Chabaudie N, Boulard C. Effect of hypodermin A, an enzyme secreted by *Hypoderma lineatum* (Insect Oestridae), on the bovine immun system. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1992;31:167-177.
17. Chabaudie N, Villejoubert C, Boulard C. The response of cattle vaccinated with hypodermin a to a natural infestation of *Hypoderma bovis* and *Hypoderma lineatum*. Int. J. Parasitol. 1991;21(7):859-862.
18. Charbon JL, Pfister K, Hernandez S (ed.), Gasca A (ed.), Martinez J (ed.), Pithan K. Hypodermosis in Switzerland, Improvements in control methods for warble –fly in cattle and goats: workshops held in Cordoba 8 to 10 May 1991. 1992;45-50.
19. Colwell DD. Ultrastructure of the Integument of First-Instar *Hypoderma lineatum* and *H. bovis* (Diptera: Oestridae). J. Med. Entomol. 1991;28(1):86-94.
20. Colwell DD. Persistence of cattle grubs (Diptera: Oestridae) on a Canadian ranch with long-term, continuous therapeutic control. Vet. Parasitol. 2000;94:127-132.

21. Colwell DD, Baron RW. Early detection of cattle grub (*Hypoderma lineatum* and *H. bovis*) (Diptera, Oestridae) using ELISA. Med. Vet. Entomol. 1990;4(1):35-42.
22. Cosoroba I, Cristina R, Darabus G, Opreacu I. Epidemiology of hypodermosis in a district in south-west Romania. Reveu-de-Medicine-Veterinaire, 1994;145(8-9):659-661.
23. Danmark JR, Chessum BS. Standardization of Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and the detection of toxoplasma antibody. Med. Lab. Sci. 1978;35:221-228.
24. Dik B. Veteriner Entomoloji. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 1998:139-149.
25. Dinçer Ş. İnsan ve Hayvanlarda Myiasis. Edit. Özcel MA, Daldal N. *Parazitoloji'de Artropod Hastalıkları Vektörler*. Türkiye Parazitoloji Derneği. Yayın No:13. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir. p. 1997:212-216.
26. Fisher W, Pruett JH, Howard VM, School PJ. Antigen-specific lymphocyte proliferative responses in vaccinated and *Hypoderma lineatum*-infested calves. Vet. Parasitol. 1991;40:135-145.
27. Gülanber A, Tüzer E, Gargılı A, Toparlak M, Efil İ, Keleş V, Ulutaş M. Trakya'da Mezbahada Kesilen Sığırlarda Hypodermosis. Tr. J. Vet. Anim. Sci. 2000;24:429-430.
28. Gülendame S. Temel Tıbbi Parazitoloji. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı. 2. Baskı, Sivas. p. 2002:207-208.
29. Golub ES, Green AR. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in Immunology. 2<sup>th</sup> ed. Massachusetts, USA. 1992.
30. Haine D, Boelaert F, Pfeiffer DU, Saegerman C, Lonneux JF, Losson B, Mintiens K. Herd-level seroprevalence and risk-mapping of bovine hypodermosis in Belgian cattle herds. Preventive Veterinary Medicine, 2004;65 (1-2):93-104.
31. Hunter FF, Adserballe CF. Cuticular structures on the antennae of *Hypoderma bovis* De Geer (Diptera: Oestridae). International Journal of Insect Morphology and Embryology, 1996;25(1-2):173-181.

32. Jackson F, Taylor MA, Jacobs DE. Diagnosis of Animal Parasitism. *Parasitology Today*, 1998;14(8):295-297.
33. Kennaugh JH. Pore Canals in the Cuticle of *Hypoderma bovis* (Diptera). *Nature*, 1965;205:207.
34. Kettle DS. *Medical and Veterinary Entomology*. CAB International Wallingford Oxon OX108DE UK. 1990;267-273.
35. Lonneux JF, Losson BJ. The efficacy of moxidectin 0.5% pour-on against *Hypoderma bovis* in naturally infested cattle: parasitological and serological data. *Vet. Parasitol.* 1994;52(3-4):313-320.
36. Lonneux JF, Losson B, Nguyen TQ, Bughin J, Czaplicki G. Hypodermosis in the provinces of Liege and Luxembourg: results of serological surveys. *Annales de Medicine Veterinaire*, 1994;138(8):551-557.
37. Martinez-Moreno J, Reina D, Naverrate I, Jimenez V, Martinez-Moreno A, Hernandez S. Epidemiological survey of hypodermosis in western Spain. *Vet. Rec.* 1996;139(14):340-343.
38. Martinez-Moreno FJ, Wassal DA, Becerra-Martell C, Hernandez-Rodriguez S. Comparison of the use of secretory and somatic antigens in an ELISA for the serodiagnosis of hypodermosis. *Vet. Parasitol.* 1994;52:321-329.
39. McLintock J. Puparium formation in Diptera. *Nature (London)*. 1964;201:1245.
40. Mimioğlu MM. *Veteriner ve Tibbi Artropodoloji*. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1973.
41. Moire N. Hypodermin A and Inhibition of Lymphocyte Proliferation. *Parasitology Today*, 1998,14(11):455-457.
42. Otronto D. The immunology of myiasis: parasite survival and host defense strategies, *Trends in Parasitology*, 2001;17(4):176-182.
43. Otronto D, Colwell DD, Traversa D, Stevens JR. Species identification of *Hypoderma* affecting domestic and wild ruminants by morphological and molecular characterization. *Med. Vet. Entomol.* 2003;17(3):316-322.
44. Otronto D, Testini G, Sottili R, Capelli G, Puccini V. Screening of commercial milk samples using ELISA for immuno-epidemiological evidence of infection by the cattle grub (Diptera: Oestridae). *Vet. Parasitol.* 2001;99:241-248.

45. Otronto D, Traversa D, Tarsitano E, Stevens J. Molecular differentiation of *Hypoderma bovis* and *Hypoderma lineatum* (Diptera, Oestridae) by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *Vet. Parasitol.* 2003;112:197-201.
46. Panadero R, Lopez C, Diez P, Morrondo P, Sanchez-Andrade R. Seroprevalence of *Hypoderma lineatum* (*De Villiers*, 1789) detected by indirect ELISA on cattle in Lugo Province (N.W. Spain). *Res. Rev. Parasitol.* 1994;54:129-132.
47. Panadero R, Lopez C, Mezo M, Morrondo P, Banoz D. Effect of early treatment with ivermectin and doramectin on the dynamics of antibody response in cattle naturally infested by *Hypoderma lineatum* and *H. bovis*. *Vet. Parasitol.* 1997;73:325-334.
48. Panadero-Fontan R, Lopez-Sandez C, Parra-Fernandez F, Morrondo-Pelayo P, Diez-Banos P, Colwell DD. Detection of circulating hypodermin C: an antigen capture ELISA for diagnosis of cattle grub (Diptera: Oestridae) infestations. *Vet. Parasitol.* 2002;108:85-94.
49. Papadopoulos E, Himonas C, Boulard C. The prevalence of bovine hypodermosis in Greece, Symposia of the VII. European Multicolloquim of Parasitology. 2-6. September 1996, Parma Italy, *Parasitologia-Roma*, 1997;39(4):431-433.
50. Puccini V. Hypodermosis in Italy: current situation, In: Pfister K, Charbon JL, Tarry DW, Pithan D (Eds.), *Improvements in the Control Methods for Warble Fly in Cattle and Goats*. Final report of European COST 811, Brussels, EC. p. 21. 1994.
51. Puccini V, Arru E, Lanfranchi P, Pietrobelli M, Restani R, Scaromozzino P. Hypodermosis in Italy: current situation, In: Puccini, V., Giangaspero, A. (Eds.), *Proceedings of the Thirteenth Meeting of European Working Group on Hypodermosis: Improvements of Means of Control of Warble Fly in Cattle and Goats*, Parma, Italy, 5-6 September. p. 53. 1997.
52. Regalbono AF, Capelli G, Otronto D, Pietrobelli M. Assesment of cattle grub (*Hypoderma spp.*) prevalence in northeastern Italy: an

- immunoepidemiological survey on bulk milk samples using ELISA. *Vet. Parasitol.* 2003;2497:1-8.
53. Robertson RH. Antibody production in cattle infected with *Hypoderma* spp. *Can. J. Zool.* 1978;58:245-251.
  54. Sayın F, Boulard C, Thornberry H, Boulard C (ed.), Thornberry H. Present situation of hypodermosis in Turkey, Warble fly control in Europe. A symposium in the EC Programme of Coordination of Research on Animal Pathology, Brussels. 16-17 September 1982, 39, 41, 1984.
  55. Sayın F, Kalkan A, Karaer Z. Türkiye’de Sığır Hypodermosis’i Üzerine Epidemiyolojik Araştırmalar. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi.* 2000;14(1):115-127.
  56. School PJ. Biology and Control of Cattle Grubs. *Annu. Rev. Entomol.* 1993;39:53-70.
  57. Sinclair IJ, Tarry DW, Wassall DA. Persistence of antibody in calves after an infection with *Hypoderma bovis*. *Res. Vet. Sci.* 1984;37:383-384.
  58. Sinclair IJ, Wassall DA. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Hypoderma bovis* in cattle. *Res. Vet. Sci.* 1983;34(2):251-252.
  59. Sinclair IJ, Tarry DW, Wassall DA. Serological survey of the incidence of *Hypoderma bovis* in cattle in 1988. *Vet. Rec.* 1989;124:243-244.
  60. Soulsby EJJ. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*, 7 th. Ed. The English Language Book Society and Bailliere Tindal, London, 1982:432-437.
  61. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyostatistik*. Hatipoğlu Yayınevi, 8. Baskı, Ankara, 1993.
  62. Tarry DW. *Biology, Economic Effects and Efforts to Eradicate Hypoderma*. <http://www.Tours.Inra.fr/tours/pap>. Erişim tarihi: 19.04.2003.
  63. Tarry DW, Sinclair IJ, Wassal DA. Progress in the British hypodermosis eradication programme: the role of serological surveillance. *Vet. Rec.* 1992;131:310-312
  64. Van Donkersgoed J, Jewison G, Mann M, Cherry B, Altwasser B, Lower R, Wiggins K, Dejonge R, Thorlakson B, Moss E, Mills C, Grogan H. Canadian beef quality audit. *Can. Vet. J.* 1997;38:217-225.

65. Webster KA, Dawson C, Flowers M, Richards MS. Serological prevalence of *Hypoderma* species in cattle in Great Britain (1995 / 96) and the relative value of serological surveillance over clinical observation. *Vet. Record.* 1997;141:261-263.
66. Webster KA, Giles M, Dawson C. A competitive ELISA for the serodiagnosis of hypodermosis. *Vet. Parasitol.* 1997;68:155-164.
67. Yin H, Ma M, Yuan G, Huang S, Liu Z, Luo J, Lanzhou GG. Hypodermosis in China. *J. of Anim. and Vet. Adv.* 2003;2(3):179-183.