

A.Ü. Veteriner Fakültesi

Protozooloji ve Tıbbi Artropodoloji ve Patolojik Anatomi Kursüleri
Prof. Dr. Fahri Sayın

Prof. Dr. Mahir Pamukçu

ANKARA KEÇİSİNDE EIMERIA ARLOINGI'NİN (MAROTEL 1905) MARTIN, 1909 BİYOLOJİSİ ÜZERİNDE DENEYSEL ARAŞTIRMALAR*

Fahri Sayın**

Şükran Dinçer***

Ümit Milli****

Life cycle of Eimeria arloingi (Marotel 1905) Martin, 1909 in Angora goats.

Summary: In order to determine the pattern of oocyst discharge, the development of endogenous stages of *E. arloingi*, 16 Angora kids, 6 weeks old, were inoculated with 0.001 to 10 million *E. arloingi* oocysts. They began discharging oocysts 16 (15-18) days after inoculation. Oocysts were discharged continuously for 14 (14-15) days.

In sections of intestinal tissue, 1st and 2nd generations of schizonts were present. Mature first generation schizonts, first seen 9 days after inoculation, had a diameter of 247x147 microns and many thousands of merozoites with a dimension of 10x1.4 microns. Mature first generation schizonts and immature ones, first seen 6 days after inoculation in endothelial cells, were found in lacteal of villi of duodenum, jejunum and ileum. They were also present in Peyer patches and sinuses of lymph nodes. Second generation schizont, trophozoites with single of submucosa nucleous and sexual stages occurred in epithelial cells lining of the crypts and villi of small intestine. Mature second generation schizonts, first seen 12 days after inoculation, had a diameter of 21x11 microns and 8-24 merozoites with a dimension of 7.5 (4-10) microns. Sexual stages were first observed

* Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu tarafından desteklenmiştir (Proje No. VHAG- 315)

** Prof. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Protozooloji ve Tıbbi Artropodoloji Kursüsü Ankara-Türkiye.

*** Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Protozooloji ve Tıbbi Artropodoloji Kursüsü. Ankara-Türkiye.

**** Dr. Mcd. Vet. A.Ü. Veteriner Fakültesi Patolojik Anatomi Kursüsü. Ankara Türkiye.

13 days following inoculation. The sizes of mature microgametocytes, macrogametes and oocysts were 25x16, 25x15 and 29x17 microns respectively. (Received on 25.12.1978)

Özet: Ankara keçilerinde *E. arloingi*'nin biyolojisini araştırmak amacıyla takriben 6 haftalık 16 Ankara keçisi oğlağı 0,001-10 milyon *E. arloingi* oocystleriyle inoküle edilmiştir. İnokülasyondan 16 (15-18) gün sonra oğlakların dışkıında oosistler çıkmaya başlamış ve oosist çıkarma durumu 14 (14-15) gün devam etmiştir.

Bu hayvanlarda ince barsaktan yapılan kesitlerde 1. ve 2. nesil şizontlara raslanmıştır. Olgun 1. nesil şizontlar 247x147 mikron büyüklükte olup, ilk defa inokülasyondan 9 gün sonra kesilen oğlaklarda saptanmıştır. Bunlardan her birinin içinde 10x1.4 mikron büyüklükte, sayılamıyacak derecede çok merozoit görülmüştür. Gerek olgun şizontlar, gerekse inokülasyondan 6 gün sonra kesilen oğlaklarda endotel hücreleri içinde görülen genç şizontlar duodenum, jejunum ve ileumda villus kanallarında, submukozada Peyer' plaklarında ve mesenteriyal lenf yumrularında tesbit edilmişlerdir. 2. nesil şizont, trofozoit, makrogamet, mikrogametosit ve oosistler duodenum, jejunum ve ileumda Lieberkühn bezleri ve villus epitel hücreleri içinde bulunmuşlardır. Olgun 2. nesil şizontların her birinin 21x11 mikron olduğu, 7 (4-10) mikron uzunlukta 8-24 merozoit ihtiva ettiği ve inokülasyondan 12 gün sonra ortaya çıktığı saptanmıştır. Makrogamet, mikrogametosit ve oosistlerin büyüklüklerinin sırasıyla 25x15, 25x16, 29x17 mikron olduğu ve enfeksiyondan 13 gün sonra ortaya çıktıkları görülmüştür.

Giriş

Koksidioz keçi yetiştiriciliği için ciddi bir hastalık olup, genç hayvanlarda % 40-70 oranında ölüm meydana getirmekte, et, süt ve tiftik üretiminin sırasıyla % 47.3, % 36 ve % 28.7 oranlarında düşmesine sebep olmaktadır (1).

Çeşitli araştırmacıların bildirdiğine göre keçilerde koksidioz meydana getiren 11 *Eimeria* türü vardır (3,6,12). *Eimeria arloingi* bu türlerden biridir. İlk defa 1905 yılında koksidiozdan ölen bir keçide raslanan bu türün dünyada çok yaygın olduğu (3) ve Türkiye'de gerek Ankara keçisi (14) ve gerekse kıl keçilerinde (8) % 77 oranında bulunduğu bildirilmiştir.

Koksidiozdan ölen keçilerin barsaklarından yapılan mikroskopik muayenelerde ince barsak villilerinin kanallarında, büyüklükleri 141-280 mikrona ulaşan, olgunluğun çeşitli basamaklarında 1. nesil şizontlara raslanmıştır (4,10,13). Bazı araştırmacılar (11,15) 1. nesil şizontla-

rın şekil, yapı, büyüklük ve barsak dokusunda buldukları yerlere göre 3 ayrı tipte olduklarını bildirmişlerdir. Bu tiplerden bazısının villi kanallarında, diğer bazılarının propria mukoza'nın yanında veya dip kısmında yer aldıklarını, büyüklüklerinin 166-340 mikron arasında değiştiğini kaydetmişlerdir. Bu tip şizontlara mezenteriyal lenf yumrularında da raslanmıştır (2). Olgunlaşmış her bir şizont içinde büyüklük, şekil, yapı ve yerleşme bakımından değişiklik gösteren takriben 100.000 kadar merozoit bulunmuştur (4). Bunlara ilaveten, ölen oğlaklardan bazılarının ince barsağında Lieberkühn bezlerinin epitel hücreleri içinde büyüklükleri 14 mikrona ulaşan ve 22 kadar merozoit ihtiva eden 2. nesil şizontlar saptanmıştır (4, 9).

Diğer taraftan özellikle barsak mukozasında, susam şeklindeki lezyonların (plaklar) buldukları yerlerden yapılan kesitlerde büyüklükleri 24-26 mikrona erişen çok sayıda makrogamet, mikrogametosit ve oosistler görülmüştür. Bunlar villileri örten veya Lieberkühn bezlerini oluşturan epitel hücreleri içinde yerleşmiş ve bazı olaylarda bir bezin tüm epitel hücrelerinin parazitler tarafından istila edilebildiği tesbit edilmiştir (4,10,11,13,15).

Histolojik muayenelerle yukarda söz konusu edilen bulguların saptandığı hayvanların dışkılarında genellikle *E. arloingi*, *E. christenseni*, *E. crandallisi*, *E. parva* ve *E. faurei* gibi türlerin oosistlerine birlikte raslanmıştır (4,10,11,13,15). Bunların arasında *E. arloingi* oosistlerinin diğerlerinden daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum, oğlakların ölümünün *E. arloingi*'den ileri gelebileceği, raslanan şizogonik ve gametogonik gelişme şekillerinin bu türe ait olabileceği izlenimini yaratmıştır (2,4,10,13). Fakat 3 ayrı tipte 1. nesil şizontlara raslayanlar bunlardan her birinin *E. arloingi*, *E. christenseni*, *E. crandallisi* veya *E. parva*'ya ait olabileceğini ileri sürmüşlerdir (11). Bütün bu çalışmalar sahada birden çok *Eimeria* türü ile enfekte olmuş oğlaklar üzerinde yapıldığından, çeşitli araştırmacılar (4,10,11,13) elde edilen bu bulguların *E. arloingi*'nin biyolojisini kanıtlayamayacağını bildirmişlerdir. Nitekim Levine ve Ivens (5) ve Pellerdy (12) *E. arloingi*'nin keçilerde bulunan şizogonik ve gametogonik çoğalma şekillerinin, prepatent ve patent sürelerinin henüz bilinmediğini ve bunların incelenmesi gerektiğini kaydetmişlerdir. Ayrıca bu amaçla yapılacak çalışmaların, *E. arloingi*'nin saf oosistleri kullanılarak, yeni doğmuş oğlaklarda oluşturulacak dencysel enfeksiyonlar üzerinde yürütülmesinin daha sağlıklı olacağına ve konuya açıklık getireceğine işaret etmişlerdir.

Bu araştırma *E. arloingi*'nin biyolojisinde bilinmeyen noktaları aydınlığa kavuşturmak amacı ile yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Deney Hayvanı :

Bu çalışmada Çifteler Harasından temin edilen takriben 1,5 aylık 16 Ankara keçisi oğlağı kullanılmıştır. İnokülasyon için gerekli *E. arloingi* oosistleri bu araştırmanın ön çalışmalarında deney hayvanı olarak kullanılan Ankara keçisi oğlaklarından temin edilmiştir.

Deney oğlaklarından 2 tanesi 1000, 2 si 10.000, 2 si 50.000, 2 si 100.000, 2 si 1.000.000, 2 si 2.500.000, 2 si 5.000.000 ve 2 tanesi de 10.000.000 keçi orijinli sporlanmış *E. arloingi* oosistleriyle inoküle edilmişlerdir. Bunun için, içinde sporlu oosistler bulunan inokülüm hayvanlara içirilmiştir. İnoküle edilen hayvanlar, deney süresince, daha önce keçi ve koyun girmemiş, beton zeminli ayrı odalarda barındırılmışlardır. Yataklık olarak odaların zemini sapla döşenmiş ve bu yataklık hergün yenilenmiştir. Su, yem ve ot kapları zeminden yüksek yerlere konmuş ve bunlar her gün temizlenmiştir. Hayvan bakıcısı ve araştırmacılar her defasında temiz çizmelerle hayvanların yanına girip çıkmışlardır.

Deney hayvanları deney süresince pastörize inek sütü, arpa kırması ve güneşte bekletilmiş yaş yonca ile beslenmişlerdir. Her hayvana günde 2 defa ve her defasında takriben 200 cm³ süt verilmiştir. Yonca, arpa kırması ve su her an hayvanların önünde hazır bulundurulmuştur.

Hayvanlar inoküle edilmeden önce takriben ilk 12 gün süreyle gün aşırı, müteakip 3 gün süreyle her gün oosist yönünden koprolojik muayeneye tâbi tutulmuşlardır. Dışkı alabilmek için her hayvan bir süre kafese konmuş ve pisledikten sonra serbest bırakılmıştır.

İnokülümün hazırlanması :

Yukarda anlatıldığı şekilde temin edilen saf *E. arloingi* oosistlerini ihtiva eden oğlak dışkıları toplanıp buzdolabında, büyük bir kavanoz içinde biriktirilmiştir. Sonra bu dışkı suyla karıştırılıp belender vasıtasıyla homojen duruma getirilmiştir. Elde edilen homojen dışkı sırasıyla herbiri 841, 297, 149, 88 ve 74 mikron genişliğinde gözelerle sahip, çeşitli süzgeçlerden geçirilmiştir. Süzüntü bir kova içinde buzdolabına konarak 24 saat dinlendirilmiştir. Bunu takiben kovanın üstünde toplanan sıvı sifonla atılmış ve dipte kalan tortunun üzerine musluk suyu ilâve edilerek tekrar homojen duruma getirilmiştir.

Bu homojen dışkı beherglasa aktarıldıktan sonra içinde % 2.5 oranında $K_2Cr_2O_7$ katılmış ve laboratuvarda mağnetik karıştırıcı üzerinde dönmeye terkedilmiştir. Böylece homojen dışkı içinde bulunan oosistlerin havayla teması sağlanmış ve kısa sürede tamamen sporlanmaları temin edilmiştir.

İnokülümde bulunan sporlu oosistlerin canlılık kontrolü :

Yukarda belirtildiği şekilde sporlandırılarak hazırlanan inokülümünden takriben 60 cm^3 alınmış, içindeki sporlu oosistler, $ZnSO_4$ solusyonu kullanmak suretiyle santrifüj flotasyon tekniğiyle ayrılmıştır. Bu oosistler serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra santrifüje edilerek (2000 devirde 10 dakika) konsantre duruma getirilmişlerdir. Bunlar 2 lam arasında sıkıştırılıp kabukları çatlatıldıktan sonra, Ph sı 7.5 olan eksistasyon vasatına (0.25 gr trypsin, 0.65 gr NaCL, 0.012 gr $CaCl_2$, 0.014 gr. KCl, 5 cm^3 %0.5.lik sodium taurocholate, 95 cm^3 saf su) aktarılmış ve 37°C de 5 saat kadar bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda oosistleri terkedenden sporozoitlerin hareketleri faz kontrast mikroskop altında izlenmiştir.

Deney hayvanlarının inoküle edilmesi :

Sporlu oosistleri ihtiva eden inokülüm, birkaç defa musluk suyu ile karıştırılarak 2000 devirde 10 dakika santrifüje edilmiş ve böylece içinde bulunan $K_2Cr_2O_7$ 'tan temizlenmiştir. Bunu takiben temiz inokülümünden 0.1 cm^3 alınmış, doymuş $ZnSO_4$ solusyonu ve santrifüj folotasyon tekniği kullanılarak bunun içinde mevcut sporlu oosistlerin miktarı sayılmıştır. Buradan inokülümün dozağı tayin edilmiştir.

Deney hayvanlarından her birine verilecek inokülüm miktarı hesabedildikten sonra cam mezüre konmuş, içerisine bir miktar ılık su ilave edilmiş, cam huni ve buna takılan lastik hortum vasıtasıyla hayvanlara teker teker içirilmiştir.

İnokülasyondan sonra, takriben 1.5 ay süreyle, her gün hayvanlar izlenmiş, dışkıları alınarak *Eimeria* oosistleri yönünden muayene edilmişlerdir. Keçi orijinli oosistlerle (*E. arloingi*) inoküle edilen oğlaklardan, inokülasyonu takibeden 20 gün içinde ve 3 er gün arayla parazitin gelişmesini incelemek amacıyla 1 er tanesi öldürülmüştür. Bir oğlağın kesilmesinin plânlandığı günlerde enfeksiyondan ölen oğlaklar varsa bunlar o gün kesilmiş gibi değerlendirilmiştir. Gerek kesilen ve gerekse enfeksiyondan ölen bütün oğlakların barsağının her

30 cm'sinden parçalar alınmış ve bunlar % 10 luk formolde tesbit edilmiştir. Barsak parçalarıyla birlikte mezenteriyal ve ileosekal lenf düğümlerinden de kesitler alınarak gene % 10 luk formolde tesbit edilmiştir. Bu numunelerden yapılan histolojik kesitler rutin hematoksil-eozin ile boyanmıştır. Böylece hazırlanan preparatlarda parazitlerin gelişme şekilleri 40 lık ve immersion objektifler yardımıyla mikroskop altında incelenmiştir. Otopsi yapılan hayvanların barsak mukozasından kazıntı almak suretiyle hazırlanan natif preparatlar ise faz kontrast mikroskop altında muayene edilerek *E. arloingi*'nin gelişme şekilleri araştırılmıştır.

Çalışmayla ilgili resimler Olympus Fotomaks mikroskop ile çekilmiş, parazite ait ölçüler formolde tesbit edilip hematoksil-eozin ile boyanan preparatlardan öküler mikrometre yardımıyla alınmıştır.

Bulgular

1) *Eimeria arloingi*'nin oğlaklarda oosist oluşturma potansiyeli :

Eimeria arloingi ile inoküle edilen 16 oğlakda izlenen oosist çıkarma durumu cetvel 1 de özetlenmiştir. Buna göre *E. arloingi*'nin prepatent süresinin 8 oğlakda 16.2 (15-18), patent süresinin 2 oğlakda 14.5 (14-15) gün olduğu, 7 oğlakda inokülasyondan 20.8 (15-28) gün sonra dışkıda en çok sayıda oosist bulunduğu, bu esnada 1 mgr. dışkıda mevcut oocyst sayısının 1939 (172-4484) olduğu görülmüştür.

2) *Eimeria arloingi*'nin oğlaklarda görülen çoğalma şekilleri :

A) Aseksüel safhada olanlar :

a) *Birinci nesil şizontlar* : *E. arloingi*'nin 1. nesil şizontları inokülasyondan 6-21 gün sonra ölen ya da kesilen oğlaklarda görülmüştür. Bu şizontlar ince barsağın duodenum, jejunum ve ileum kısımları ile mesenteriyal lenf yumrularından yapılan kesitlerde bulunmuşlardır. Özellikle jejunumun, önden itibaren takriben 3-9 metre arasında kalan kısmında 1. nesil şizontların yaygın olduğu jejunumun geri kalan kısımları ile duodenum ve ileumda daha az olduğu dikkati çekmiştir. Mesenteriyal lenf yumrularında da oldukça çok sayıda 1. nesil şizontlara raslanmıştır. Birinci nesil şizontlar en çok villi intestinalislerin lakteal kanallarında görülmüştür. Bir lakteal kanalda en az 1, en çok 13 kadar 1. nesil şizont bulunmuştur (Şekil 34). Mesenteriyal lenf yumrularından yapılan kesitlerde bir sinus boşluğu içinde 1-22 kadar 1. nesil şizont görülmüştür (Şekil 35). Bunlara ek olarak

Çetvel - 1

E. arloingi oosistleriyle inoküle edilen oğlaklarda meydana getirilen deneysel enfeksiyon sonuçları

Inoküle edilen oğlak sayısı	Verilen sporlu oosist sayısı (100.000 X)	Prepatent period (gün olarak)	Oosist çıkarma durumu		Dışkıda oosist çıkarma süresi (patent period)
			En çok oosist çıktığı sırada		
			1 gr. dışkıda bulunan oosist sayısı (1000 X)	İnokülasyondan sonra geçen günler	
2***	0.01	15-18	304-843	15-25	14 -
2**	0.1	18-16	3980-4884	23-26	-
2***	0.5	16-16	3104-	24-	15 -
2**	1	16-	289-	16-	-
2*	10	-	-	-	-
2*	25	-	-	-	-
2*	50	-	-	-	-
2**	100	15-	172-	17-	-
Ortalama	16.2		1939	20.8	14.5

* : Prepatent dönemini tamamlamadan ölmüş veya kesilmişlerdir.

** : Patent dönemini tamamlamadan ölmüşlerdir.

*** : Sadece 1 tanesi patent dönemini tamamlamıştır.

2 oğlakta ince barsak submukozasında Peyer plakları içinde de 1. nesil şizontlara raslanmıştır (Şekil 36).

İnokülasyondan 3 gün sonra kesilen oğlakta *E. arloingi*'nin gelişme şekillerine raslanmamıştır. İnokülasyonun 6. gününde kesilen oğlak-tan yapılan ince barsak kesitlerinde bu parazitin trofozoit (Şekil 1) ve genç 1. nesil şizontları (Şekil 2,3) bulunmuştur. İnokülasyondan 9-12 gün sonra ölen oğlaklarda biraz daha büyümüş 1. nesil genç şizontlar (Şekil 4,5,6) yanında, gelişmeleri daha ileri safhalara ulaşmış orta yaşlı 1. nesil şizontlara (Şekil 7,8,9,10,11,12,13,14,15,16) ve tamamen olgunlaşmış (Şekil 17,18) 1. nesil şizontlara raslanmıştır. İnokülasyonun 13-17. günleri arasında ölen oğlaklarda orta yaşlı ve olgun, 18-21. günleri arasında ölenlerde sadece olgun 1. nesil şizontlar görülmüştür.

İnokülasyonun 6. gününde ölen oğlakta saptanan trofozoitlerin uzunlukları 6 (5-7) mikron genişlikleri 4 (3-5) mikron olarak bulunmuştur. Çekirdeklerinin büyüdüğü, fakat henüz bölünmediği görülmüştür. Trofozoitler villus intestinalislerin lakteal kanallarını çevreleyen endoteliumdaki endotel hücreleri içinde bulunmuşlardır. Trofozoitlerin bulunduğu endotel hücrelerinde kısmen hipertrofi meydana gelmiş, kendisi ve endozomu büyüyen çekirdek bir kenara itilmiş,

stoplazma da belirgin bir parazitoforus vaküol meydana gelmiştir (Şekil 1). Aynı oğlakta bulunan 1. nesil genç şizontların büyüklüklerinin ortalama 8 (6-10) x 7 (5-9) mikron olduğu, çekirdeklerinin 8-32 parçaya bölündüğü görülmüştür. Bunların buldukları endotel hücreleri lakteal kanalların endoteliumundan ayrılarak kanalların boşluğuna düşmüşlerdir. Parazitli endotel hücrelerinde hipertrofi daha belirginleşmiş, parazitoforus vakuol oldukça genişlemiştir (Şekil 2,3,4). İnokülyasyondan 9 ve daha sonraki günlerde ölen oğlaklarda görülen genç 1. nesil şizontların oldukça büyüdüğü çekirdeklerinin birçok parçaya bölündüğü ve düzensiz olarak sitoplazma içine dağıldığı görülmüştür. Bu şizontların bulunduğu endotel hücrelerinde ileri derecede hipertrofi ve sitoplazmada çok geniş bir parazitoforus vakuol'un varlığı, sitoplazmanın 2 tabakaya ayrıldığı, içteki tabakanın dıştakine nazaran daha granüllü olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 5,6,7). Parazitli endotel hücresinin etrafı, ezilip yassılaşmış hücrelerden oluşan bir tabakayla çevrilmiştir. İleri derecede gelişmiş şizontların etrafı ise doğrudan doğruya böyle bir tabaka ile kuşatılmıştır (Şekil 13). Gerek trofozoit ve gerekse genç 1. nesil şizontlarda refraktil cisim ile kresent cisim görülmemiştir.

Orta yaşlı 1. nesil şizontların değişik büyüklükte (50-357 mikron) oldukları, sitoplazmada bulunan çekirdeklerin şizontun perifer kısmında dizilmeye başladıkları görülmüştür (Şekil 8,9,10). Biraz daha gelişmiş şizontlarda periferdeki çekirdek dizisinden merkeze doğru ilerleyen çöküntülerin meydana geldiği, çöküntülerin düz seyretmeyip sağa sola doğru büküldükleri ve şizontun sitoplazmasını değişik şekil ve büyüklükte kompartımanlara ayırdıkları, böylece bu kompartımanlar arasında bir takım boşluklar meydana getirdikleri dikkati çekmiştir (Şekil 13). Kompartımanlar arasındaki boşluklarla parazitoforus vaküolün içerisinde aynı tip eosinofilik materyalin bulunması bu boşlukların parazitoforus vaküolden orijin aldıklarını kanıtlamaktadır. Kompartımanlar tekrar bölümlere ayrılarak değişik şekil ve büyüklükte, her biri ince granüllü şizont stoplazması ile bunu çevreleyen tek sıralı çekirdek dizisinden oluşmuş, kürecikler (blastoforlar) meydana gelmiştir (Şekil 11,12,15,16). Kompartımanlı veya blastoforlu 1. nesil şizontların kılıf şeklinde bir konakçı endotel hücresi tarafından kuşatıldıkları görülmüştür (Şekil 11,12). Bu şizontların etrafını kuşatan konakçı endotel hücrelerinin çekirdekleri ya küçülüp dejenere olmuş veya tamamen kaybolmuştur. Refraktil ve kresent cisimlere bu şizontlarda da raslanmamıştır. Biraz daha gelişmiş orta yaşlı şizontlarda, blastoforların periferindeki çekirdeklerin her birinden

bir merozoit meydana geldiği ve radial şekilde dışarıya doğru uzandığı dikkati çekmiştir (Şekil 14).

İnokülasyondan 9 gün sonra öldürülen oğlaklarda görülen bazı şizontlar içinde merozoitlerin oluştuğu göze çarpmıştır. Olgun bazı şizontlar içinde merozoitlerin küresel veya elipsoidal kümeler şeklinde gruplaştıkları (Şekil 17,18), diğer bazılarında ise bunların düzensiz bir şekilde dağıldıkları görülmüştür. Bu durumun şizontların tamamen olgunlaşmamasından ileri gelmesi muhtemeldir. Ölçülen 50 adet olgun şizontun uzunluklarının ortalama 247 (139-359), genişliklerinin ise 147 (68-243) mikron olduğu saptanmış ve bunlardan her birinin yüzbinlerce merozoit ihtiva ettiği görülmüştür. Olgun şizontların etrafı lökosit toplulukları ile kuşatılmıştır. Bu şizontlardan çoğunun etrafında, yassılaştırmış hücrelerden meydana gelen veya konakçı endotel hücrenin oluşturduğu kılıf kaybolmuştur. Genç, orta yaşlı ve olgun şizontlara çoğunlukla villusların lakteal kanallarında, mezenteriyal lenf yumrularının sinus boşluklarında ve seyrek olarak da ince barsağın submukozasındaki Peyer plaklarında raslanmıştır.

Birinci nesil merozoitlerden 100 tanesinin boyları ölçülmüş ve ortalama 10 (9-12) mikron uzunlukta, 1.4 (1-1.9) mikron genişlikte oldukları görülmüştür. Merozoitlerin çekirdeklerinin kalın kutuba yakın yerde buldukları ve sitoplazmalarının granüllü olduğu tesbit edilmiştir.

b) *İkinci nesil şizontlar*: *Eimeria arloingi*'nin 2. nesil şizontları inokülasyondan 11-23 gün sonra ölen oğlaklarda görülmüştür. Bunlara ince barsağın duodenum, jejunum ve ileum kısımlarından yapılan kesitlerde raslanmıştır. Bunların özellikle jejunum'un önden itibaren 1-6 metrelik kısmında daha fazla sayıda oldukları anlaşılmıştır.

İkinci nesil şizontlara en çok Lieberkühn bezlerinin epitel hücreleriyle, villi intestinalisleri örten epitel hücreleri içinde raslanmıştır. Bir epitel hücresi içinde sadece bir şizontun, fakat 1 Lieberkühn bezinde veya 1 villi intestinalisde birçok şizontun geliştiği dikkati çekmiştir.

Trofozoit veya 4 çekirdekli genç 2. nesil şizontlara (Şekil 22) inokülasyondan 12 gün veya daha sonra öldürülen oğlaklarda raslanmıştır. Bunlar konakçı epitel hücreleri içinde ve çekirdeğin yukarısında yerleşmiştir. Etraflarının belirli bir parazitoforus vaküolü ile çevrilmiş olduğu, krescent cisminden yoksun oldukları, genellikle

oval veya yuvarlak olup, büyüklüklerinin de 3-6 mikrona ulaştığı görülmüştür.

Orta yaşlı 2. nesil şizontlarda çekirdeklerin, önce düzensiz bir şekilde dağıldıkları, sonra şizontun çevresinde sıralandıkları (Şekil 17) ve şizontların etrafında belirli bir parazitoforus vaküölü bulunduğu görülmüştür.

Olgun 2. nesil şizontlar 21.7 (11.4-44.4) x 11.9 (8.8-20.3) mikron büyüklükte ve etraflarında geniş bir parazitoforus ile çevrilmiştir. Bu şizontların içinde merozoitler ve bazılarında protoplazma kalıntısı yer almıştır. Merozoitler 7.5 (4-10) mikron uzunlukta olup şizontun içinde muz salkımı şeklinde dizilmişlerdir (Şekil 20). Bazı şizontlarda bunlar düzensiz bir şekilde dağılmışlar, ortada bir protoplazma kalıntısı yer almıştır (Şekil 21). Her bir şizont içinde 8-24 kadar merozoit bulunmuştur. Şizontların bulunduğu konakçı epitel hücrelerinin genişlemiş oldukları ve çekirdeklerinin de şizont tarafından bir kenara itildiği dikkati çekmiştir.

B) Seksüel safhada olanlar:

a) *Makrogametler*: *Eimeria arloingi*'nin makrogametlerine inokülasyondan 12-27 gün sonra ölen oğlakların ince barsaklarının duodenum, jejunum ve ileum kısımlarından yapılan kesitlerde, özellikle plaklarda yığın halinde raslanmıştır (Şekil 33). Bunların Lieberkühn bezlerinin epitel hücreleri içinde ve villi intestinalisin üst ve yanlarını örten epitel hücreleri içinde geliştikleri görülmüştür. Makrogametler, genellikle epitel hücreleri içinde ve çekirdeğin üst tarafında yer almışlardır. Hücre çekirdeğini kenara itip, onu ezerek yarım ay şeklini almasına veya deforme olmasına sebep olmuşlardır. Genç makrogametlerde solgun boyanan bir nükleus ve onun içinde de belirli ve koyu boyanan bir nükleolus saptanmıştır (Şekil 23,24). Nükleolusun yanında eğere benzer bir oluşuma raslanmamıştır. Makrogametlerden ekserisinin sitoplazmasında granüllere raslanmış ve makrogametlerin etrafında geniş bir parazitoforusun bulunduğu görülmüştür, fakat kresent cisme raslanmamıştır.

Olgun makrogametlere, en erken, inokülasyondan 13 gün sonra ölen oğlaklarda raslanmıştır. Bunların ortalarında cozinofilik granüllerin, çevrelerinde ise dizi halinde bazofilik granüllerin yer aldığı dikkati çekmiştir (Şekil 25, 26). Çevrede dizili bu bozofilik granüllerin sonradan aralarında birleşerek oosist kabuğunu oluşturdukları anlaşılmıştır (Şekil 27). Makrogametlerde nükleuslar sitoplazmanın

merkezinde yer almıştır. Bunların buldukları epitel hücreleri hipertrofiye olmuşlardır. Olgun makrogametlerin 25.4 (19.5-27.9) mikron uzunlukta ve 15.2 (13.9-19.5) mikron genişlikte oldukları görülmüştür. Oosistlerin büyüklükleri ise 29.2 (26-30.8) x 17.8 (14.6-19.5) mikron olarak bulunmuştur.

b) *Mikrogametositler*: Mikrogametositlere de makrogametlerin geliştikleri yerlerde, yani Lieberkühn bezleriyle, villi intestinalisleri döşeyen epitel hücreleri içinde ve inokülasyondan 12-27 gün sonra ölen hayvanlarda raslanmıştır. Özellikle ince barsak mukozasında bulunan plaklardan yapılan kesitlerde çok sayıda mikrogametosit görülmüştür (Şekil 33). Epitel hücreleri içinde bulunan mikrogametositler etrafında genişçe bir parazitoforus vaküol görülmüş, fakat kresent cisime raslanmamıştır (Şekil 23, 28). Genç mikrogametositlerin çekirdekleri hematoksilen ile koyu (bazofilik) boyanmışlardır. Çekirdeklerin başlangıçta mikrogametositlerin sitoplazması içinde düzensiz bir dağılım göstermelerine karşın giderek çevrede sıralandıkları dikkati çekmiştir (Şekil 23, 28, 29, 30). Mikrogametositlerin ortasında büyükçe bir protoplazma kalıntısı görülmüştür. Bu safhadan sonra çevrede sıralanan her bir çekirdekten uzunca bir mikrogametinin meydana geldiği ve mikrogametositin çevresinde sıralandığı dikkati çekmiştir (Şekil 31). Zamanla, tamamen olgunlaşmış mikrogametositlerde olgunlaşmış makrogametlerin çevreden ayrılarak, düzensiz bir şekilde mikrogametositin içine dağıldıkları görülmüştür (Şekil 32). Bir mikrogametosit içinde sayılamıyacak kadar çok mikrogamet bulunabilmiştir. Olgun mikrogametositlerin 25.4 (19-34) mikron uzunlukta ve 16.7 (12.7-22.8) mikron genişlikte olduğu ölçümlerden anlaşılmıştır.

Tartışma

Eimeria arloingi'nin prepatent ve patent süreleri ile keçilerdeki oosist üretim potansiyeli ilk kez bu araştırmada açıklığa kavuşturulmuştur.

Bu türün 1. nesil şizontlarına duodenum, jejunum ve ileumun villi kanalları içinde; makrogamet, mikrogametosit ve oosistlerine duodenum, jejunum ve ileumda Lieberkühn bezlerinin ve villusların epitel hücreleri içinde raslanmıştır (4,10,11,15). Birinci nesil şizontlar mezenteriyal lenf yumrularında da bulunmuştur (2,7). Lieberkühn bezleri epitel hücreleri içinde 2. nesil şizontlar da görülmüştür. Fakat

bunların *E. arloingi*'ye ait olduğu kesinlikle belirtilmemiştir (4). Karışık *Coccidia* enfeksiyonundan ölen oğlaklardan elde edilen bu bulgular genellikle bizim aldığımız sonuçlara uygundur. Bunlara ilaveten, bizim çalışmalarımızda *E. arloingi*'nin 1. nesil şizontlarına duodenum, jejunum ve ileum'da villus kanallarının endotel içinde ve submukozada Peyer plaklarında; 2. nesil şizontlara ise duodenumda, Lieberkühn bezleriyle villus epitelleri içinde de raslanmıştır.

E. arloingi'ye ait olduğu sanılan 1. nesil şizontların ortalama 280×150 (4), 141×100 (13), 238×190 (14), 333×160 (11) ve 275×124 (2) mikron; merozoitlerin $10-12 \times 0.8-1.2$ (4), $9-10 \times 1.5-1.8$ (11) ve $12-16 \times 1-1.8$ (2) mikron oldukları çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Birbirinden oldukça farklı olan bu ölçüler karışık *Eimeria* enfeksiyonundan ölen oğlaklardan elde edilmişlerdir. Bizim ölçtüğümüz 50 adet olgun 1. nesil şizontların ortalama büyüklüğü 247×147 mikron, 100 adet merozoitin ortalama büyüklüğü ise 10×1.4 mikron olarak ortaya çıkmıştır.

Buna karşın 2. nesil şizontların ortalama 12×9 mikron olduğu, bunların içinde herbiri 9×0.8 mikron büyüklüğünde 16-22 merozoit bulunduğu bildirilmiştir (4). Bizim ölçtüğümüz 50 adet 2. nesil şizontun ortalama 21.7×11.9 mikron olduğu, bunların içinde, her biri ortalama 8×0.8 mikron büyüklüğünde, 8-24 adet merozoit bulunduğu saptanmıştır.

Diğer taraftan makrogametlerin ortalama 16×12 (4) ve 29×19 (15) mikron; mikrogametositlerin 16×11 (4) ve 40×25 (15) mikron, oosistlerin ise 24×15 (4) mikron olduğu bildirilmiştir. Herbirinden 50 adet ölçülerek, bizim çalışmalarımızda makrogametlerin ortalama 25.4×15.2 mikron, mikrogametositlerin 24.4×16.7 mikron, oosistlerin de 29.2×17.8 mikron oldukları görülmüştür.

Sonuç olarak, *E. arloingi*'nin prepatent süresinin 16 gün, patent süresinin 14 gün olduğu; seksüel ve aseksüel çoğalma dönemlerini duodenum, jejunum ve ileumda tamamladığı; 1. nesil şizontların mezenteriyal lenf yumrularında da geliştikleri bu çalışma ile ortaya çıkmıştır.

Literatür

1. **Antipin, D.N., Ershow, V.S., Zoolotorev, N.A., and Salyaev, V.A.** (1956): *Parasitology and Parasitic Diseases of Livestock*. National Science Foundation, Washington D.C. and The Department of Agriculture by The Israil Programme for Scientific Translation.

2. **Bhatia, B.B. and Pande, B.P.** (1967): *Giant eimerian schizont in mesenteric lymph nodes of a kid.* Ind. microbiol., 7 (4): 161-164.
3. **Davies, S.F.M., Joyner, L.P. and Kendal, S.B.** (1963): *Coccidiosis.* Oliver and Boyd, Edinburgh. X + 264 pp.
4. **Levine, N.D., Ivens, V. and Frits, I.E.** (1962): *Eimeria christenseni sp. n. and other Coccidia (Protozoa; Eimeridae) of the goat.* J. Parasit., 48: 255-269.
5. **Levine, N.D. and Ivens, V.** (1970): *The coccidian parasites (Protozoa Sporozoa) of ruminants.* Illinois Biological Monographs 44, University of Illinois press., 278 pp.
6. **Lotze, J.C.** (1952): *The pathogenicity of the coccidian parasite. E. arloingi in domestic sheep.* Cornell Vet., 42: 510-517.
7. **Lotze, J.C., Leek, R.G., Shalkop, W.T. and Behin, R.** (1961): *Coccidian parasites in the "wrong host" animal.* J. parasit., 47 (suppl.): 34.
8. **Merdivenci, A.** (1959): *Türkiye'de koyun ve keçilerde coccidiose.* Türk Vet. Hek. Dern. Derg., 29: 260-281.
9. **Micheal, E. and Probert, A.J.** (1970): *Histopathological observations on some coccidial lesions in natural infections of sheep.* Res. Vet. Sci., 11: 441-446.
10. **Mugera, G.M.** (1968): *Pathology of coccidiosis in Kenya goats.* Bull. Epizoot. Dis. Afr., 16: 102-107.
11. **Pande, B.P., Bhatia, B.B., Chauhan, P.P.S. and Kala, P.** (1957): *A giant Eimerian schizonts from two cases of coccidiosis in kid.* Ind. J. Vet. Sci., 37: 58-65.
12. **Péllerdy, L.P.** 1974): *Coccidia and Coccidiosis.* Akad. Kiado Budapest, pp. 959.
13. **Sayın, F.** (1965): *Eimeria arloingi (Marotel, 1905) Martin 1909 in Angora goats.* A. Ü. Vet. Fak. Derg., 12: 208-218.
14. **Sayın, F.** (1966): *Tiftik keçilerinde bulunan Eimeria türleri; E. parva Kotlan, Mocsy ve Vajda, 1929'nun biyolojisi üzerinde deneysel araştırmalar.* A.Ü. Vet. Fak. Yay., 199. 56 s.
15. **Singh, P.P., and Pande, B.P.** (1967): *Histopathological observations on some coccidial lesions, in natural infestations of goats in India.* Ann. Parasit., 42: 141-153.

"Yazı 25-12-1978 Günü Alınmıştır."

RESİMLERDE KULLANILAN HARFLERİN AÇIKLAMALARI

bl	blastoforus
co	kompartment
c	eritrosit
g	gamontlar
hc	endotel hücresi
i	Perifer çekirdek dizilerinin in- vaginasyonu
kd	kılcal damar
l	lakteal kanal
m	merozoit
ma	makrogamet
mi	mikrogametosit
mic	mikrogamet
nu	nukleus
nul	nukleolus
oc	oosist
p	parazitoforus
pp	peyer plağı
pk	protoplazma kalıntısı
pn	periferde nukleus sıralanması
sch	şizont
2sch	ikinci nesil şizont
schn	şizontun çekirdekleri
sp	sporozoit
t	trofozoit

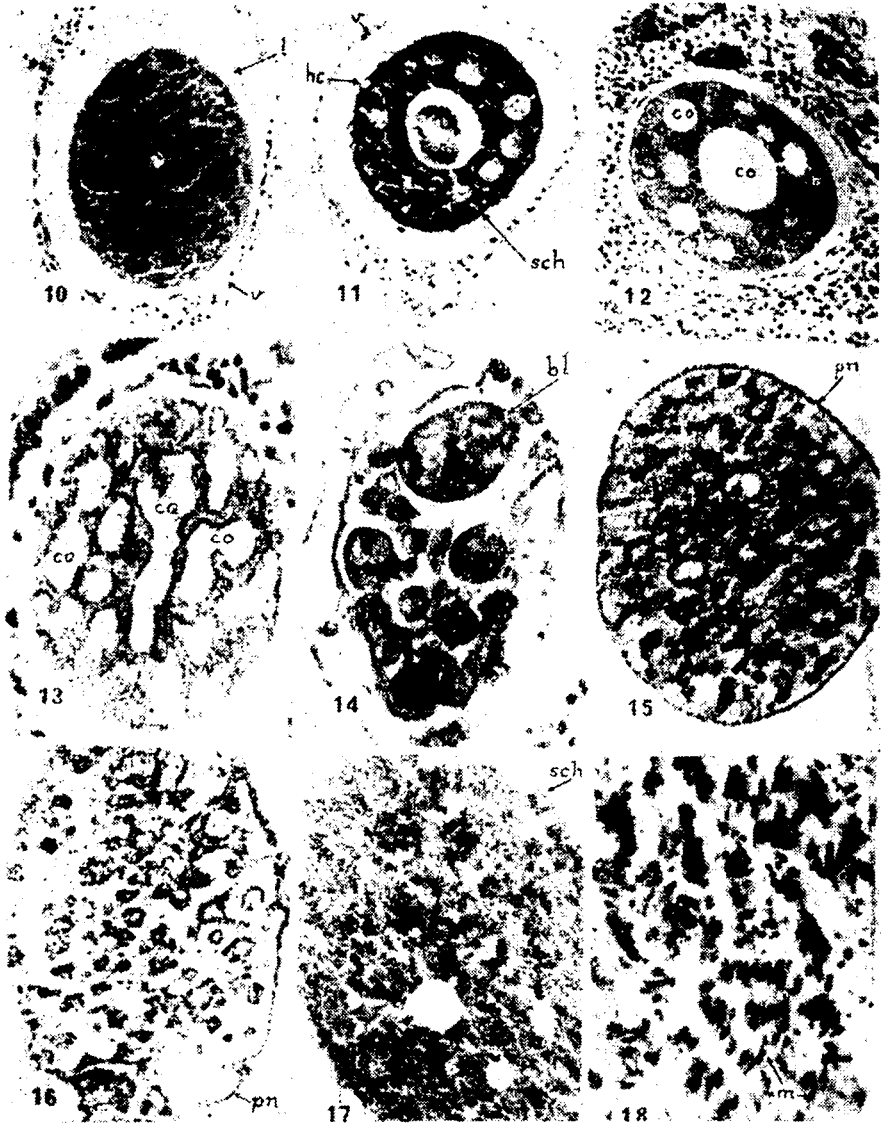


Şekil 1: Endotel hücresi içine yeni girmiş sporozoit (X 250) parazitoforus vakuolü belirlenmiş. (Sporozoite in the endothelial cell lining the lacteal canal of villi intestinalis).

Şekil 2: Endotel hücresi içinde 16 çekirdekli genç 1. nesil şizont (X 250), parazitoforus vakuolü genişlemiştir. (Early first generation schizont with 16 nuclei in the endothelial cell lining the lacteal canal of villi intestinalis).

Şekil 3,4,5,6: Gelişmeleri biraz daha ilerlemiş genç şizontlar (X 250), bazılarında parazitoforus vakuolü çok daha belirgin. (Early first generation schizonts in more advanced of development in endothelial cells lining the lacteal canal of villi intestinalis).

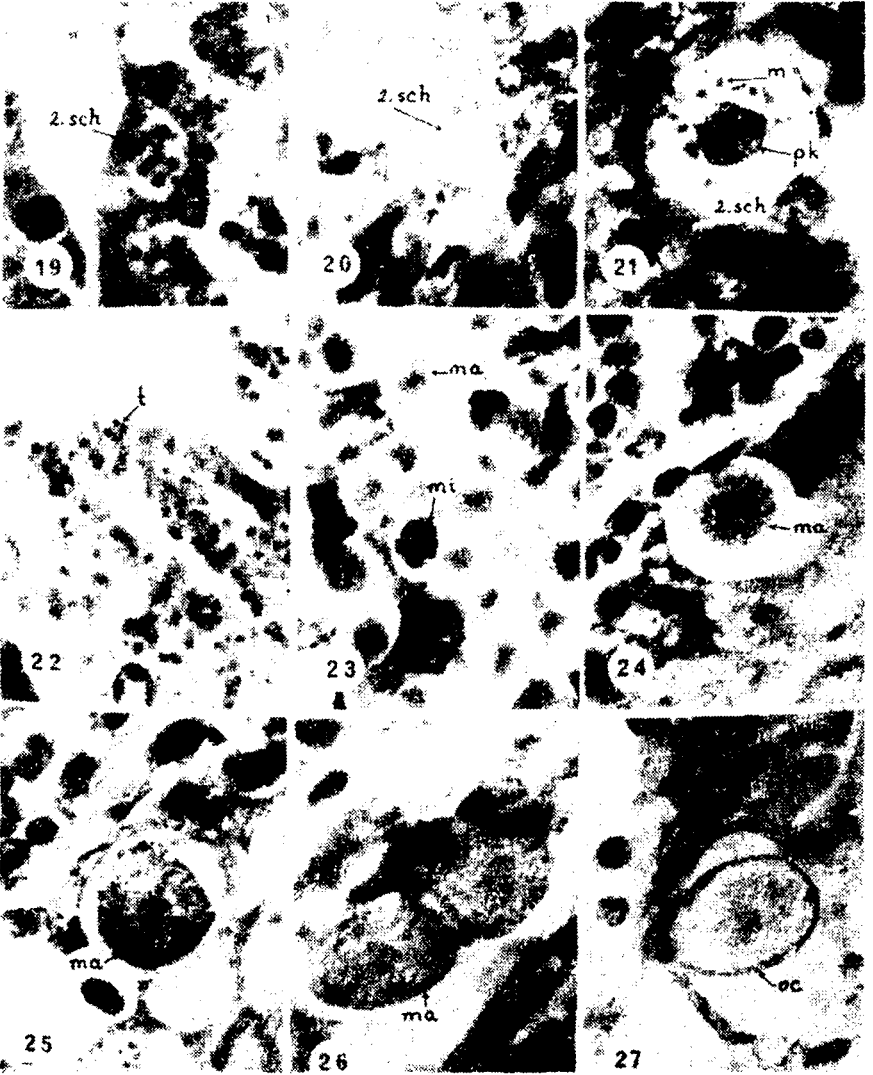
Şekil 7,8,9: Orta yaşlı 1. nesil şizontlar (X 250), çekirdekleri binlerce parçaya bölünmüş, parazitoforus vakuolü küçülmüş, endotel hücresi şizontun etrafında bir kılıf şekline almıştır. (Intermediate first generation schizonts in endothelial cells lining the lacteal canals of villi intestinalis).



Şekil 10,11,12: Villus kanallarında orta yaşlı 1. nesil şizontlar (X 250), bazılarında perifer çekirdek sıraları ve blastoforus meydana gelmiştir. Bu şizontların etrafında ince bir kılıf şeklinde endotel hücreleri mevcuttur. (Intermediate first generation free schizonts in the lacteal canals of villi intestinalis).

Şekil 13,14,15,16: Biraz daha gelişmiş 1. nesil orta yaşlı şizontlar (X 250), blastoforuslar daha belirgin, bazılarında (Şekil 14) blastoforuslardan merozoitlerin teşekkül etmeye başladığı görülüyor. (Intermediate first generations in the stage of compartmentalization).

Şekil 17,18: Olgun 1. nesil şizontlar (X 260), içinde binlerce 1. nesil merozoit görülüyor. (Mature first generation schizonts contained first generation merozoites).



Şekil 19: 2. nesil merozoitler (X 1400), enine kesilmiş. (Mature 2 nd . generation schizonts contained 2nd. generation merozoites in transversal section.)

Şekil 20,21: 2. nesil olgun şizontlar (X 1400) bazısında protoplazma kalıntısı mevcuttur. (Şekil 21). (Mature 2 nd. generation schizonts contained 2nd. generation merozoites in longitudinal sections.)

Şekil 22: Lieberkühn bezlerinde epitel hücrelerini istila eden trofozoitler (X 1400). (Many trophozoites in the epithelial cells of Lieberkühn gland.)

Şekil 23: Lieberkühn bezinde epitel hücreleri içinde genç makrogametler ve mikrogametositler (X 1400). (Early microgametocytes and macrogametes in the epithelial cells of Lieberkühn gland.)

Şekil 24,25: Lieberkühn bezleri epitel hücreleri içinde orta yaşlı makrogametler (X 1400), sitoplazmalarında granüller teşekkül etmiş durumda. (Intermediate macrogametes in the epithelial cells of Lieberkühn glands.)

Şekil 26: Lieberkühn bez epitel hücreleri içinde olgun makrogametler (X 1400), çevrede sıralanan plastik granüller görülüyor. (Mature macrogametes in the epithelial cells of Lieberkühn glands.)

Şekil 27: Lieberkühn bezi epitel hücreleri içinde olgun oosist (X 1400), plastik granüller kabuğa dönüşmüş. (oocyst in the epithelial cell of Lieberkühn gland.)



Şekil 28: Lieberkühn bezi epitelleri içinde genç mikrogametosit (X 1550), çekirdek bir çok parçaya bölünmüş. (Early microgametocyte in the epithelial cell of Lieberkühn gland).

Şekil 29, 30: Orta yaşlı mikrogametosit (X 1550), çekirdekler çevrede sıralanmış, ortada protoplazma kalıntısı yer almıştır. (Intermediate microgametocyte in the epithelial cell of lieberkühn gland).

Şekil 31: Oldukça olgun mikrogametosit. (X 1550), çevrede diziler halinde mikrogametler oluşmaya başlamış. (Mature microgametocyte contained many microgametes).

Şekil 32: Tamamen olgunlaşmış mikrogametosit (X 1550), içinde olgun mikrogametler dağınık bir şekilde ve ortada protoplazma kalıntısı görülüyor. (Mature microgametocyte contained many microgametes).

Şekil 33: Barsak mukozasında bir plak'ın kesitinde görülen çok sayıda genç ve olgun makrogamet, mikrogametositler (X 135). (Many mature macrogametes and microgametocytes observed in the section of small intestine).

Şekil 34: Villus kanallarında bulunan 1 veya daha çok sayıda 1. nesil şizontlar görülüyor (X 135). (Many first generation schizonts observed in the lacteal canals of vilil intestinalis).

Şekil 35: Mezenteriyal lenf yumrusunda sinuslar içerisinde bulunan 1. nesil şizontlar görülmektedir (X135). (First generation schizonts observed in the mesenteric lymph nodes).

Şekil 36: Peyer plakları içinde bulunan 1. nesil şizontlar görülmektedir (X 135). (First generation schizonts at the peyer patches in the submucosa of small intestine).