

## BELİRLİ BAZI LABORATUVAR HAYVANLARININ PARAMPHISTOMUM CERVI METASERKERLERİ İLE DENEYSEL ENFEKSİYONU

Ayşe Burgu\*

### Experimental infection of some laboratory animals with *Paramphistomum cervi metacercariae*.

**Summary:** *To understand the susceptibility of different laboratory animals to *Paramphistomum cervi* infections; albino mice, rats, quinea-pigs and rabbits were infected with 7-20 days old metacercariae of these flukes.*

*None of the animals were starved before the infection.*

*Beginning from seventh day of the infection, two animals of each species were killed weekly and their digestive tracts were examined. No flukes were found both in mice and rats, and a single amphistome was detected in the quinea pig dissected two weeks after the infection.*

*On the other hand rabbits were found the most suitable laboratory model for *P.cervi* infections. Until the 13 th weeks of the infection immature amphistomes were permanently recorded in these animals in a decreasing frequency. The infection rate varied between 0.5 to 34 %.*

*These trematodes were found only in the small intestines of the rabbits with the maximum size of 3.59 × 1.26 mm. after fixation with 5 % formalin solution.*

**Özet:** *Çeşitli laboratuvar hayvanlarının *Paramphistomum cervi* enfeksiyonlarına duyarlılığını anlamak amacı ile beyaz fare, rat, kobay ve tavşanlar 7-20 günlük metaserkerlerle enfekte edilmişlerdir. Hayvanlar enfeksiyondan önce aç bırakılmamışlardır.*

\* Doç.Dr. Med. Vet., A.Ü. Vet. Fak. Genel Parazitoloji ve Helmintoloji Birimi.  
Ankara - Türkiye.

*Enfeksiyondan sonra, her hafta kullanılan bu hayvanlardan ikisinin otopsi yapılmış ve sindirim sistemleri kontrol edilmiştir.*

*Fare ve ratlarda parazitlere rastlanmamış, yalnızca enfeksiyondan 2 hafta sonra öldürülen bir kobayda tek bir parazit bulunmuştur.*

*Kullanılan laboratuvar hayvanları arasında P.cervi enfeksiyonları için en uygun laboratuvar modelinin tavşanlar olduğu saptanmıştır. Tavşanlarda 13. haftaya-kadar gittikçe azalan sayıda parazitlere rastlanmış, enfeksiyon oranının % 0.5-34.0 arasında değiştiği gözlenmiştir. Parazitlere yalnızca ince barsaklarda rastlanmış ve en büyük parazitlerin % 5 formolle fikzasyondan sonra  $3.59 \times 1.26$  mm. büyüklükte olduğu ölçülmüştür.*

### Giriş

Bazı parazitlerle laboratuvar hayvanlarının başarılı olarak enfekte edildiği eskiden beri bilinmektedir. Paraziter enfeksiyonlarda uygun bir laboratuvar modelinin saptanması, parazitlerin biyoloji ve fizyolojilerinin incelenmesinde, ilaçla sağıtım çalışmalarında, enfektif şekillerin invivo kontrollerinde ve çeşitli bağışıklık araştırmalarında kolaylık ve parasal yönden kazanç sağlamaktadır.

Trematodlardan F.hepatica'nın rat, fare, tavşan ve kobaylarda olgunlaşabildiği bildirilmiş, birçok ilaçla sağıtım ve bağışıklık çalışması bu gibi laboratuvar hayvanlarında yürütülmüştür (4, 6, 10, 13, 14). Bununla beraber laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan bu gibi çalışma sonuçlarının, bazen F.hepatica'nın normal konakçısı olan gevişgetiren hayvanlardaki uygulamalara oranla değişiklik gösterebildiğine de dikkat çekilmiştir (2,8)

Abdel Ghani (1), Fasciola gigantica'nın az sayıda da olsa kobay ve tavşanlarda gelişebildiğini bildirmiş, Gerber ve arkadaşları (5) ise, aynı parazitin rat dışında kullandıkları diğer laboratuvar hayvanlarında gelişebildiğini, ancak olgunlaşamadıklarını kaydederek, bu gibi hayvanların genç kelebeklerin sağıtımı çalışmalarında veya metaserkerlerin enfektivitelerinin kontrollerinde faydalı olabileceklerini belirtmişlerdir.

Soulsby (12), Dicrocoelum dendriticum enfeksiyonlarına hamster, cotton rat, beyaz rat ve kobayların duyarlı olduğunu bildirmektedir.

Yukarıda kısaca değindiğimiz gibi gevişgetirenlerin bu üç önemli karaciğer trematodunun laboratuvar hayvanlarındaki gelişmeleri ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen, gene gevişgetiren hayvanlarda

olgunları rumende parazitlenen *Paramphistomum*'larla ilgili çalışmalar çok sınırlıdır.

Lengy (9), yüzlerce *P.microbothrium* metaserkerini küçük ekmek parçacıkları üzerinde fare ve ratlara verdiğinde, enfeksiyondan 24 saat sonra hem fare hem de ratlarda ileum ve jejunumda çok sayıda ve çok küçük *Paramphistomum*'lara rastladığını ve bu parazitlerin morfolojik olarak metaserkerlerden çok az farklılık gösterdiğini kaydetmiştir. Araştırmacı (9), enfeksiyondan 48 saat sonra otopsisini yaptığı rat ve farelerden yalnızca birinde ve az sayıda *Paramphistomum*'lara rastladığını, 72 saat sonra ise hiçbirinde bu parazitlere rastlamadığını kaydederek, *P.microbothrium* metaserkerlerinin kemirici hayvanlarda açıldığını ancak serbest kalan parazitlerin ileri gelişme gösteremeyip 2-3 gün içinde ölerek vücut dışına atıldığını bildirmektedir.

Abdel Ghani (1) ise, *Paramphistomum cervi* metaserkerleri ile enfekte ettiği fare, hamster, rat, kobay, tavşan gibi hayvanlardan yalnızca kobayda *P.cervi*'ye rastladığını belirtmektedir. Araştırmacı (1), yedi günlük 40 adet *P.cervi* metaserkerini salatalık yaprağı üzerinde 24 saat açlığı müteakip, ilk enfeksiyondan 16 gün sonra da üç günlük 200 *P.cervi* metaserkerini aç bırakmadan bir kobaya vermiştir. İlk enfeksiyondan 30 gün sonra, ikinci enfeksiyondan 14 gün sonra yapılan otopside 100 adet *Paramphistomum*'a rastladığını (% 41. 66) kaydetmektedir.

Singh ve Pande (11), sahadan toplanan *Indoplanorbis*'lerden elde edilen *amphistomum* metaserkerleriyle kobay, tavşan, rat, kuzu, oğlak, kedi ve köpek yavrularını enfekte ettiklerinde yalnızca tavşan, kobay ve kuzularda parazitlere rastlandığını bildirmektedirler. Araştırmacılar (11), kobaylara 300-500, tavşanlara 500'er metaserker verdiklerini, otopsileri 3 ile 30 gün arasında yapılan kobaylardan 3 ünde parazitlere rastlamadıklarını ve enfekte bulunan hayvanlardaki parazit sayısının 6-40 arasında değiştiğini kaydetmektedirler. Araştırmacılar (11), kobaylarda parazitlere ektopik olarak akciğer ve karaciğerde rastladıklarını histolojik kesitlere dayanarak ilk kez bildirmektedirler. Singh ve Pande (11), enfekte ettikleri tavşanların otopsilerini 20 günde tamamladıklarını, 3 tavşandan 1 inde parazite rastlamadıklarını, diğerlerinde ise verilen metaserker sayısına göre az sayıda parazite tesadüf ettiklerini kaydetmektedirler. Araştırmacılar (11) elde ettikleri parazitlerin *P.explanatum* olmasının çok muhtemel olduğuna değinmektedirler.

Aynı yazarlar (11), Poster'in *P.calicophoron*'un tavşan ve ratlarda geliştiğini bildirdiğini de kaydetmektedirler.

Kraneburg ve Boch (7), *P.cervi*'nin koyunlardaki gelişmesinde, parazitlere 47.günde rumende de rastlanmağa başladığını, parazitlerin % 4 formolle fizkazyondan sonra büyüklüklerinin verilen metaserker sayısına göre değişik olmakla beraber, 1500 metaserker verilen koyunlarda 21.günde  $1.92 \times 0.64$  mm, 34. günde  $2.48 \times 0.85$  mm, 47. günde  $3.24 \times 1.16$  mm, 60. günde  $3.67 \times 1.26$  mm olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar (7), *P.cervi* enfeksiyonlarında enfeksiyon oranını koyunlarda % 40.6, sığırlarda % 44.8 olarak bildirmişler.

Burgu (3), 1000 er metaserkerle enfekte ettiği koyunlarda prepatent süre sonunda verilen metaserker sayısına göre enfeksiyonun % 19.6 - 77.0 arasında değiştiğini kaydetmiştir.

Yukarıda verilen bilgilerin ışığı altında *P.cervi*'nin kolaylıkla elde edilebilen beyaz fare, rat, kobay ve tavşanlarda gelişip gelişemediğini, bunlardan iyi bir laboratuvar modeli olup olamayacağını araştırmayı amaçladık Bu konuda geçerli az çalışma bulunmasından ve bulgularımızın bu çalışma sonuçlarından farklı olmasından ötürü yayınlamayı uygun gördük.

### Materyal ve Metot

Çalışmamızda deney hayvanı olarak 10 beyaz fare, 10 rat, 10 kobay ve 30 tavşan kullanılmıştır.

Bu hayvanlara *Paramphistomum cervi miracidium*'ları ile laboratuvarında enfekte edilmiş *Planorbis planorbis*'lerden sağlanan 7-20 günlük metaserkerler verilmiştir.

Canlılık kontrolleri yapılmış metaserkerler ince bir bistüri yardımı ile ufak kurutma kağıdı parçacıkları üzerine istenilen sayıda yerleştirilmişlerdir. Beyaz farelere 75, ratlara 100, kobaylara 150, tavşanlara da 200 er *P.cervi* metaserkeri verilmiştir. Deney hayvanlarının enfeksiyonlarında, hayvanlar enfeksiyon öncesi aç bırakılmamışlar ve istenilen sayıda metaserkeri içeren kurutma kağıdı parçacıkları kıvrılarak ince bir pensle bu hayvanlara yutturulmuştur.

Fare, rat ve kobayların 1.haftadan başlamak üzere 5.haftaya kadar, tavşanların 15.haftaya kadar her hafta 2 şer adetinin periyodik olarak otopsileri yapılmıştır. Otopsilerde sindirim sistemi (mide, ince barsak ve kalın barsak bölümleri) ve içerikleri kontrol edilmiş, diğer organlarda makroskobik değişiklik olup olmadığına bakılmıştır.

Otopsilerde toplanan parazitler sayılarak verilen metaserker sayısına göre enfeksiyon oranı saptanmıştır. Toplanan parazitler % 5 formolde tespit edildikten sonra, 12.hafta (5 örnek) ve 13.hafta (2 örnek) dışında her hafta 10 örneğin ölçümü yapılarak büyüklükleri saptanmıştır.

### Sonuçlar

Fare, rat ve kobayların hiçbirinde *P.cervi*'ye rastlanmamıştır. Kobaylarda ise yalnızca enfeksiyondan 2 hafta sonra otopsi yapılan 2 kobaydan 1 inde ince barsak arka bölümünde 1 adet  $0.81 \times 0.38$  mm. büyüklüğünde *P.cervi*'ye rastlanmıştır. Otopsilerde iç organlarda makroskobik olarak bir değişiklik dikkati çekmemiştir.

Aynı şekilde enfeksiyondan sonra 1.haftadan başlamak üzere otopsi yapılan tavşanlarda ise ince barsaklarda ve özellikle bu barsak bölümünün ön kısımlarında *P.cervi*'lere rastlanmış, mide ve kalın barsaklarda parazitlere rastlanmamıştır. Otopsilerde diğer iç organlarda da herhangi makroskopik bir değişiklik görülmemiştir.

Cetvel 1'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi tavşanlarda *P.cervi*'lere 13.haftaya kadar rastlanmıştır. Onbirinci ve 13.haftalarda birer tavşanda, 14. ve 15.haftalarda ise her ikisinde parazit görülmemiş, diğer bütün tavşanlarda *P.cervi*'lere rastlanmıştır. Verilen metaserker sayısına oranla elde edilen parazit yüzde ortalaması 3.üçüncü haftaya kadar nispeten yüksek bulunmuş, (% 16.25-30.00), 4. üncü ile 8.haftalar arasında az bir düşüş göstermiş (% 12.25-15.50), 9.uncu haftadan itibaren belirgin olarak azalmış ve 13.üçüncü haftaya kadar bazı dalgalanmalar göstermekle beraber % 0.5-4.75 arasında değişmiştir. Enfeksiyon oranındaki bu düşme, *P.cervi*'lerin normal konakçısı olmayan bu hayvanlarda 9.haftadan itibaren atılmağa başladığını göstermektedir.

Cetvel 1'in son sütununda gösterildiği gibi parazitlerin ortalama büyüklüklerinin enfeksiyon sonrası 1.haftadan başlamak üzere 13. haftaya kadar nisbeten kademeli olarak arttığı gözlenmiştir. Ancak en büyük parazitlere enfeksiyondan sonraki 8 ve 9.haftalarda rastlanmış bu parazitlerin büyüklükleri  $3.59 \times 1.26$  mm. olarak ölçülmüştür. Genel olarak boyu 3 mm. den büyük olan *P.cervi*'ler 8.haftadan itibaren görülmüşler ve bu dönemden itibaren de parazitlerin tavşanlardaki maksimum büyüklüklerine ulaştıkları izlenmiştir. Bununla beraber bu dönemlerde büyük parazitlerin yanı sıra nisbeten küçük olanlara rastlanmış, parazitlerin hepsinin aynı gelişmeyi göstermediği dikkati çekmiştir.

**Cetvel 1:** Paramphistomum cervi metaserkerleri ile enfekte edilen tavşanlarda otopsi sonuçları ve parazitlerin ortalama büyüklükleri.

| Otopsi zamanı | Tavşan No. | Elde edilen parazit |       |              | Ortalama parazit büyüklüğü boy X en (mm.) |
|---------------|------------|---------------------|-------|--------------|---|
|               |            | sayısı              | % si  | % ortalaması |   |
| 1. hafta      | 1          | 47                  | 23.50 | 21.50        | 0.68 × 0.32                               |
|               | 2          | 39                  | 19.50 |              |   |
| 2. hafta      | 3          | 32                  | 16.00 | 16.25        | 0.84 × 0.41                               |
|               | 4          | 33                  | 16.50 |              |   |
| 3. hafta      | 5          | 52                  | 26.00 | 30.00        | 1.14 × 0.52                               |
|               | 6          | 68                  | 34.00 |              |   |
| 4. hafta      | 7          | 18                  | 9.00  | 12.25        | 1.69 × 0.74                               |
|               | 8          | 31                  | 15.50 |              |   |
| 5. hafta      | 9          | 3                   | 1.50  | 15.50        | 2.00 × 0.89                               |
|               | 10         | 59                  | 29.50 |              |   |
| 6. hafta      | 11         | 32                  | 16.00 | 15.50        | 2.12 × 0.92                               |
|               | 12         | 30                  | 15.00 |              |   |
| 7. hafta      | 13         | 41                  | 20.50 | 14.25        | 2.21 × 0.92                               |
|               | 14         | 16                  | 8.00  |              |   |
| 8. hafta      | 15         | 15                  | 7.50  | 14.50        | 2.75 × 1.04                               |
|               | 16         | 43                  | 21.50 |              |   |
| 9. hafta      | 17         | 7                   | 3.50  | 2.75         | 2.76 × 1.04                               |
|               | 18         | 4                   | 2.00  |              |   |
| 10. hafta     | 19         | 14                  | 7.00  | 4.50         | 2.78 × 1.04                               |
|               | 20         | 4                   | 2.00  |              |   |
| 11. hafta     | 21         | 19                  | 9.50  | 4.75         | 2.50 × 1.05                               |
|               | 22         | -                   | -     |              |   |
| 12. hafta     | 23         | 5                   | 2.50  | 1.50         | 2.60 × 1.08                               |
|               | 24         | 1                   | 0.50  |              |   |
| 13. hafta     | 25         | 2                   | 1.00  | 0.50         | 2.85 × 1.04                               |
|               | 26         | -                   | -     |              |   |
| 14. hafta     | 27         | -                   | -     | -            | -   |
|               | 28         | -                   | -     |              |   |
| 15. hafta     | 29         | -                   | -     | -            | -   |
|               | 30         | -                   | -     |              |   |

### Tartışma

Paramphistomum cervi, P.microbothrium ve P.explanatum'un fare ve ratlarda gelişmediği bildirilmiştir (1, 9, 11). Yalnızca Singh ve Pande (11), Poster'in P.calicophoron'un ratlarda geliştiğini bil-

dirdiğini kaydetmişlerdir. Bizde yaptığımız çalışmada fare ve ratlarda enfeksiyondan sonra 1.haftadan itibaren *P.cervi*'lere rastlayamadık.

Kobayların *P.cervi* ve *P.explanatum* ile enfekte edilebildiği ve enfeksiyon oranının da oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir (1, 11). Biz, 2.hafta otopsislerini yaptığımız iki kobaydan 1 inde ve yalnızca 1 adet *P.cervi*'ye rastladık. Literatürde bildirilenin aksine kobayların *P.cervi* için iyi bir laboratuvar hayvanı olmadığını saptadık.

*P.cervi* ile tavşanların enfekte olmadığı (1), *P.explanatum* ile ise enfekte olabildikleri ancak enfeksiyon oranının düşük olduğu bildirilmiştir (11). Yaptığımız çalışmada kullandığımız laboratuvar hayvanları içinde en uygununun tavşanlar olduğunu ve bu hayvanlarda 13.haftaya kadar *P.cervi*'lere rastlandığını, enfeksiyon oranının otopsi zamanına göre değişmekle beraber % 0.5-34 olduğunu gördük.

Burgu (3), *P.cervi*'nin normal konakçılarında koyunlardaki enfeksiyon oranının % 19.6-77.0 olduğunu, Kraneburg ve Boch(7) ise bu oranın koyunlarda % 40.6, sığırlarda % 44.8 olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedende tavşanlarda özellikle 8.haftaya kadar olan enfeksiyonlarda ortalama enfeksiyon oranının küçümsenmeyecek bir düzeyde olduğu (% 12.25-30.00) dikkati çekmiştir.

Koyunlarda *P.cervi*'lerin ortalama büyüklüklerinin 47.günde  $3.24 \times 1.16$  mm., 60.günde  $3.67 \times 1.26$  mm. olduğu bildirilmiştir (7). Biz, bu ve bunlara yakın dönemlerde tavşanlardan topladığımız parazitlerin ortalama büyüklüklerinin koyunlardakine oranla daha küçük olduğunu gördük. Bununla beraber, en büyük *P.cervi*'lere 8. ve 9. haftalarda rastladık ve büyüklüklerinin  $3.59 \times 1.26$  mm. olduğunu, genel olarak 8.haftadan itibaren 3 mm.den daha büyük *P.cervi*'lere rastlanabildiğini gördük.

Singh ve Pande (11) kobaylarda *P.explanatum*'a ektopik olarak akciğer ve karaciğerde rastladıklarını kaydetmişlerdir. Biz histolojik kesitler yapmamakla beraber kullandığımız laboratuvar hayvanlarında diğer organlarda makroskobik olarak herhangi bir değişiklik görmedik.

Sonuç olarak; fare, rat, kobay ve tavşan gibi laboratuvar hayvanlarından, olgunlaşmamakla beraber sadece tavşanlarda *P.cervi*'nin 13.haftaya kadar gelişebildiğini, özellikle bu parazitin genç dönemleri ile ilgili yapılacak çalışmalarda bunlardan faydalanılabileceğini saptadık.

**Literatür**

- 1- **Abdel Ghani, A.F.** (1960): *Experimental infection of animals with Fasciola and Paramphistomum cyst.* Agric. Rec. Rev., Cairo, 38, 275-287.
- 2- **Boray, J.C., F.A.Happich and J.C.Andrews** (1967): *Studies on the suitability of the albino rat for testing anthelmintic activity against Fasciola hepatica.* Ann. trop. Med. Parasit., 61, 104-111.
- 3- **Burgu, A.** (1980): *Eskişehir Çifteler Harası yöresinde koyunlarda Paramphistomum cervi Schrank, 1790'nun biyolojisi üzerinde çalışmalar.* Doçentlik tezi, Ankara. (Henüz yayınlanmamıştır).
- 4- **Dawes, B.** (1962): *Additional notes on the growth of Fasciola hepatica L. in mouse, with some remarks about recent researches in Belgium.* J.Helminth., 36, 259-268.
- 5- **Gerber, H.Ch., F.Hörchner und T.Oğuz** (1974): *Die Fasciola gigantica Infektion bei kleinen Laboratoriumstieren.* Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 87, 207-210.
- 6- **Güralp, N. ve B.T.Simms** (1961): *Laboratuvarda Fasciola hepatica metaserkerleri ile enfekte edilen tavşanların, subcutan tetrachlorure de carbone verilme suretiyle tedavileri üzerinde araştırmalar.* Vet.Fak. Derg. Ankara Üniv. 8, 34-44.
- 7- **Kraneburg, W. und J.Boch** (1978): *Beiträge zur Biologie und Pathogenität des einheimischen Pansenegels Paramphistomum cervi. 3. Entwicklung in Rind, Schaf und Reh.* Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 91, 71-75.
- 8- **Kendall, S.B. and I.J.Sinclair** (1971): *Barriers to reinfection with Fasciola hepatica in the rabbit.* Res. vet. Sci., 12, 74-79.
- 9- **Lengy, J.** (1960): *Study on Paramphistomum microbothrium Fischöder, 1901. A rumen parasite of cattle in Israel.* Bull.Res.Coun. Israel, B 9, 71-130.
- 10- **Rajasekariah, G.R. and M.J.Howell** (1978): *Acquired immunity to the trematode Fasciola hepatica in rats.* Aust. J. exp. Biol. med. Sci., 56, 747-756.
- 11- **Singh, M.D. and B.P.Pande** (1972): *On experimental infection of guinea-pigs, rabbits and lambs with an amphistome metacercaria: a histopathologic study.* Indian J.Anim.Sci., 42, 290-297.

- 12- **Soulsby, E.J.L** (1965): *Textbook of veterinary clinical parasitology*. Vol. I. Helminths. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- 13- **Thompson, R.C.A and M.J.Howell** (1979): *Effect of BCG on the resistance of rats to infection with Fasciola hepatica*. Z.Parasit Kde., 61, 93-98.
- 14- **Thorpe, E.** (1968): *Histochemical study of the effects of some ant-helmintics in experimental fascioliasis in the rat*. Ann. trop. Med. Parasit., 62, 361-371.

Yazı 1 Ekim 1981 günü alınmıştır.