

A.Ü. Veteriner Fakültesi Protozooloji ve Tıbbi Artropodoloji ve
Patolojik Anatomi Kürsüleri

Prof. Dr. Fahri Sayın

Prof. Dr. Mahir Pamukçu

ANKARA KEÇİSİNDE EIMERIA ARLOINGİ (MAROTEL 1905) MARTİN, 1909 İLE EIMERIA OVİNA (LEVINE AND IVENS 1970) ARASINDAKİ İLİŞKİLER*

Fahri Sayın**

Şükran Dinçer***

Ümit Milli****

An experimental study for determination of independence of *Eimeria arloingi* (Marotel, 1905) Martin, 1909 and *Eimeria ovina* (Levine and Ivens, 1970)

Summary: *In order to determine the independence of E. arloingi and E. ovina 16 Angora kids, 6 week old, were inoculated with 0,001 to 10 million oocysts of E. arloingi and 4 lambs, 6 weeks in age, were inoculated with 5 to 10 million oocysts of E. ovina.*

The kids began discharging oocysts 16(15-18) days after inoculation. Oocyst discharged continuously for 14(14-15) days. Severe diarrhea occurred in the kids in association with prepatent or patent periods. Twelve kids died 12-35 days after inoculation, because of Coccidia infection. In sections of small intestine 2 generations of schizont were present. First generation schizonts were observed in lacteal canals, Payer patches and lymph nodes, and measured about 247 (139-359) X 147 (68-243) microns.

Second generation schizonts occurred in the epithelial cell linings of crypts and of villi and had a diameter of 21.7 (11.4-44.4) X 11.9 (8.8-20.3)

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

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

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

**** Asistan Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Patolojik Anatomi Kürsüsü. Ankara Türkiye.

microns. Sexual stages developed also in the places where second generation schizont took place.

The lambs inoculated with *E. ovina* oocysts began discharging oocysts about 19 days after inoculation and continued it for 15 days. During this time they passed out soft feces. Only one lamb died because of coccidiosis.

Sexual and asexual development stages of *E. ovina* in lamb occurred in the same localities as those of *E. arloingi* did it in the kids. First and second generation schizont of *E. ovina* were about 145 (100-189) × 115 (80-150) and 12.5 (11-14) × 10.5 (9-11) microns respectively.

In addition, 4 lambs were inoculated with 5 to 10 million oocysts of *E. arloingi* and 4 kids with 5 to 10 million oocysts of *E. ovina*. Three lambs and one kid neither discharged oocysts nor showed any sign of coccidiosis. One lamb and three kids, however began to discharge oocysts 19 and 15 days respectively after the beginning of inoculation. The pattern of oocysts discharge the examination of intestinal sections and the identification of oocysts showed that the three kids and 1 lamb acquired natural infections with *E. arloingi* and *E. ovina* respectively. Therefore we presumed that *E. arloingi* and *E. ovina* are independent species.

Özet: *Eimeria arloingi* ve *E. ovina* arasındaki ilişkileri incelemek amacıyla 6 haftalık 4 kuzu 5-10 milyon *E. arloingi* oosistleriyle, 4 kuzu 5-10 milyon *E. ovina* oosistleriyle, 16 oğlak 1.000-10.000.000 *E. arloingi* oosistleriyle ve 4 oğlak da 5-10 milyon *E. ovina* oosistleriyle inoküle edilmişlerdir.

E. arloingi ile inoküle edilen 4 kuzunun 3 tanesinin ve *E. ovina* oosistleriyle inoküle edilen 4 oğlağın bir tanesinin dışkılarında oosistler çıkmamış ve bu hayvanlarda koksidiyoz arazi görülmemiştir. Bu hayvanlardan 1 kuzu ile 3 oğlağın kontamine olarak tabii koksidiyozize yakalandıkları saptanmıştır. *E. ovina* oosistleriyle inoküle edilen 4 kuzunun inokülasyondan 19 gün sonra dışkılarında oosist çıkarmaya başladıkları ve 15 gün oosist çıkarmaya devam ettikleri görülmüştür. Kuzuların dışkısında yumuşama tesbit edilmiş ve kuzulardan 1 tanesi koksidiyozdan ölmüştür. *E. arloingi* oosistleriyle inoküle edilen oğlaklardan inokülasyondan 3 gün sonra kesilen oğlak dışında hepsi enfeksiyona yakalanmışlardır. Bunların dışkısında inokülasyondan 16 (15-18) gün sonra oosistler çıkmaya başlamış; bu esnada oğlaklarda şiddetli ishal kendini göstermiştir. İnokülasyondan 12-35 gün sonra da 12 oğlak ölmüştür. Deneylerden alınan bütün bu sonuçlardan *E. arloingi*'nin kuzularda, *E. ovina*'nın oğlaklarda enfeksiyon meydana getirmediği anlaşılmıştır.

Giriş

Eimeria arloingi ilk defa 1905 yılında keçilerde bulunmuştur. 1920 yılında bunun koyunlarda da görüldüğü bildirilmiştir (1, 6). Böylece *E. arloingi*'nin keçi ve koyunlarda enfeksiyon yapan z konakçılı bir tür olduğu inancı doğmuş ve bu inanç son yıllara kadar devam etmiştir. Bu süre içinde çeşitli ülkelerde çeşitli araştırmacılar tarafından keçi ve koyunlarda *E. arloingi*'nin varlığı ve insidensi incelenmiş ve bu türün her 2 hayvanda da yaygın olduğu bildirilmiştir (4, 10). Hatta, koyunlar üzerinde *E. arloingi*'nin biyolojisi (6) ve patojenitesi (5) adı altında deneysel 2 ayrı araştırma dahi yapılmıştır.

Bununla beraber, son yıllarda keçilerde görülen *E. arloingi* ile koyunlarda görülen *E. arloingi*'nin (*E. ovina*) 2 ayrı tür olduğu ileri sürülmüştür. Nitekim Kirylov (3), Tsygankov ve arkadaşları (11), keçi orijinli *E. arloingi* oosistleriyle 1.5 aylık kuzu veya koyunlarda, koyun orijinli *E. arloingi* (*E. ovina*) oosistleriyle 1.5 aylık oğlak veya keçilerde enfeksiyon meydana getirememişlerdir. Buna mukabil koyun orijinli *E. arloingi* (*E. ovina*) oosistleriyle 1.5 aylık kuzularda enfeksiyon oluşturmuşlardır. Lotze ve arkadaşları (7) da aynı konu üzerinde deneysel çalışmalar yapmışlar ve benzer sonuçlar almışlardır. Bununla beraber bunlar (8), koyun orijinli *E. arloingi* (*E. ovina*) oosistleriyle enfekte ettikleri keçi ve koyunların mezenteriyal lenf yumrularında şizontlara raslamışlardır. Diğer taraftan Deiana ve Delitala (2), keçi orijinli *E. arloingi* oosistleriyle 1 aylık bir kuzuda enfeksiyon meydana getirdiklerini bildirmişlerdir. Levine ve Ivens (4) keçilerde görülen *E. arloingi*'nin oosistleri ile koyunlarda görülen *E. arloingi* (*E. ovina*) diye bilinen türün oosistleri'nin morfolojik yönden birbirinden farklı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu bulguların ışığı altında Levine ve Ivens (4) *E. arloingi*'nin keçilere ait bir tür olduğunu kaydetmişlerdir. Koyunlarda bulunan türe *E. ovina* adını vermişlerdir. Bazı araştırmacılar (10), bu görüşe katılmakla beraber, keçilerden elde edilen saf *E. arloingi* oosistleriyle yeni doğan kuzular ve koyunlardan elde edilen saf *E. ovina* oosistleriyle yeni doğan oğlaklar üzerinde yapılacak çapraz enfeksiyon deneyleriyle bunun teyit edilmesi gereğine değinmişlerdir.

Bu araştırma Ankara keçisinde koksidioz etkeni olan *Eimeria arloingi*'nin, koyunlarda da enfeksiyon yapıp yapmadığını ve dolayısıyla *E. ovina* ile ilişkisi olup olmadığını açıklığa kavuşturmak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Deney Hayvanı :

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesinde Protozooloji ve Patolojik Anatomi kürsüsünde deneysel olarak yürütülmüştür. Deneylerde Çifteler Harasından temin edilen takriben 1,5 aylık 28 Ankara keçisi oğlağı ve 14 merinos kuzusu kullanılmıştır. İnokülasyon için gerekli *E. arloingi* oosistleri bu çalışmanın ön çalışmalarında deney hayvanı olarak kullanılan Ankara keçisi oğlaklarından, *E. ovina* oosistleri ise Lalahan Zootekni Araştırma Enstitüsünde bulunan 1 yaşını geçmemiş merinos kuzularından temin edilmiştir.

Deney oğlaklarından 2 tanesi 1.000, 2 si 10.000, 2 si 50.000, 2 si 100.000, 2 tanesi 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, 2 oğlak 5.000.000 ve 2 oğlak da 10.000.000 koyun orijinli sporlanmış *E. ovina* (*E. arloingi*) oosistleri ile inoküle edilmişlerdir. Buna ilâveten 2 kuzu 5.000.000, 2 kuzu 10.000.000 koyun orijinli *E. ovina* (*E. arloingi*)'nın sporlu oosistleriyle, 2 kuzu 5.000.000 ve 2 kuzu 10.000.000 keçi orijinli *E. arloingi*'nin sporlu oosistleriyle inoküle edilmişlerdir. İnokülasyon ağız yoluyla yapılmıştır. 8 oğlak ve 6 kuzu inoküle edilmeyip şahit bırakılmışlardır. İnoküle edilen ve şahit bırakılan 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, hayvanların üzerine çıkıp kirlenmeyecek şekilde, zeminden yüksek yerlere konmuştur. Bunlar her gün temizlenip taze su, yem ve yonca ile doldurulmuştur. Odalara sinek girmemesi için kapı ve pencerelere tel taktırılmıştır. 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. Süt biberona konduktan sonra bir süre ılık su içinde tutulmuş ve teker teker hayvanlara içirilmiştir. Yonca, arpa kırması ve su her an hayvanların önünde hazır bulunacak şekilde takviye edilmişlerdir.

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 :

Yukarıda anlatıldığı şekilde temin edilen saf *E. arloingi* ve *E. ovina* oosistlerini ihtiva eden oğlak ve kuzu dışkıları toplanıp buz dolabında, ayrı ayrı büyük kavanozlar içinde biriktirilmiştir. Sonra bu dışkı suyla karıştırılıp blender 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 buz dolabına 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 bir beherglassa aktarıldıktan sonra içine % 2.5 oranında $K_2Cr_2O_7$ katılmış ve laboratuvarında 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 :

Yukarıda belirtildiği şekilde sporlandırılarak hazırlanan inokülümünden takriben 60 cm³ alınmış, içindeki sporlu oosistler, doymuş $ZnSO_4$ 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 cm³ % 0.5 lik Sodium taurocholate, 95 cm³ saf su) aktarılmış ve 37°C de 5 saat kadar bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda oosistleri terkededen sporozoitlerin hareketleri faz kontrast mikroskop altında izlenmiştir.

Denev hayvanlarının inoküle edilmesi :

Sporlu oosistleri ihtiva eden inokülüm, bir kaç 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 cm³ alınmış, doymuş $ZnSO_4$ solusyonu ve santrifüj flotasyon tekniği kullanılarak bunun içinde mevcut sporlu oosistlerin miktarı sayılmıştır. Buradan inokülümün dozajı tayin edilmiştir.

Denev hayvanlarından her birine verilecek inokülüm miktarı hesabedildikten sonra cam mezüre konmuş, içerisine bir miktar ılık

su ilave edilmiş, iyice çalkalandıktan sonra cam huni ve buna takılan lastik hortum vasıtasıyla hayvanlara teker teker içirilmiştir. Hayvanlar sabah sütünü içip yemlerini yedikten bir süre sonra inoküle edilmişlerdir.

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 gerek parazitin gelişmesini ve gerekse lezyonların şekillenmiş ve ilerleyişini incelemek amacıyla 1 er tanesi öldürülmüştür. Bir oğlağın kesilmesinin planlandığı günlerde enfeksiyondan ölen oğlaklar varsa bunlar o gün kesilmiş gibi değerlendirilmiştir. Koyun orijinli oosistlerle (*E. Ovina*) inoküle edilen oğlak ve kuzulardan 1 er tanesi, keçi orijinli oosistlerle (*E. arloingi*) inoküle edilen kuzulardan da bir tanesi inokülasyondan 9-11 gün sonra kesilmiştir. Gerek kesilen ve gerekse enfeksiyondan ölen bütün oğlak ve kuzuların (şahitlerde dahil) sistemik otopsileri yapılmış, barsağın her 30 cm'sinden ve ayrıca gerektiğinde lezyonlu yerlerinden 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 hematoksilen-eozin ile boyanmıştır. Böylece hazırlanan preparatlarda parazitlerin gelişme şekilleri 40 lık ve immersion objektifler yardımıyla mikroskop altında incelenmiştir.

Bulgular

Eimeria ovina ile inoküle edilen kuzuların hepsinin koksidioza yakalandığı anlaşılmıştır. Enfeksiyon, hayvanlarda dışkının yumuşaması ile kendini göstermiştir. Cetvel 1 de özetlendiği gibi, inokülasyondan 10-15 gün sonra başlayan, dışkıdaki bu yumuşama 1-9 gün devam etmiştir. Bu hayvanlardan sadece 1 tanesinde, 3 gün süren bir ishal oluşmuştur. Bu dönemde hayvanların yeme karşı isteksiz ve neşesiz oldukları, aktivitelerini kaybederek durgunlaştıkları, genellikle bir köşeye çekilip büzülerek hareketsiz durdukları saptanmıştır. İnoküle edilen hayvanlardan sadece 1 tanesi inokülasyonun 18. gününde ölmüştür. Diğer 1 tanesi de projede öngörüldüğü için inokülasyondan 11 gün sonra kesilmiştir.

Cetvel 1'de görüldüğü gibi *E.ovina* ile enfekte edilen kuzuların inokülasyondan ortalama 19 (19-19) gün sonra dışkılarında oosist çı-

Cetvel: 1 *E.ovina* oosistleri ile inokü'e edilen kuzularda meydana gelen deneysel enfeksiyonun sonucu

İnoküle edilen kuzu sayısı	Verilen sporlu oosist sayısı (100.000 ×)	Prepatent periyod (gün)	Çıkarılan oosistin miktar ve süresi		Dışkıdaki değişikliğin süresi (gün)			
			En çok oosist çıktığı sırada		Dışkıda oosist çıkma süresi (patent period)	Yumuşama	İshal	Kanlı İshal
			1 gr. dışkıda bulunan oosist sayısı (1000 ×)	İnokülasyondan sonra geçen gün				
1	50	19	3242	22	17	1	0	0
1	50	19	3342	28	13	5	0	0
1*	100	-	-	-	-	9	3	0
1**	100	-	-	-	-	0	0	0
Ortalama		19	3292	25	15	5	0	0

* İnokülasyondan 18 gün sonra ölmüştür.

** İnokülasyondan 11 gün sonra kesilmiştir.

karmaya başladıkları (prepatent periyod) ve oosist çıkarma sürelerinin (patent periyod) de ortalama 15 (13-17) gün devam ettiği saptanmıştır. Bu hayvanların en çok sayıda oosisti inokülasyondan ortalama 25(22-28) gün sonra çıkardıkları, çıkan oosist sayısının da 1 mgr. dışkıda ortalama 3292 (3242-3342) olduğu anlaşılmıştır.

E. ovina ile inokülasyondan sonra ölen veya kesilen kuzuların otop-silerinde ince barsağın ödemli ve şişkin olduğu, mukozada yer yer hiperemi bulunduğu, barsak içeriğinin kısmen sulu olduğu saptanmıştır. Mikroskopik muayene ince barsakta bazı villi intestinalislerin şişkin, kilus kanallarının genişlemiş, villusları örten epitel hücrelerinin yerlerinden dökülmüş olduklarını, bazı villusların ise tamamen parçalandıklarını ortaya çıkarmıştır. Parçalanan veya dejenere olan villuslarda propria mukozada mononükleer hücre infiltrasyonu görülmüştür.

İnce barsağın duodenum, jejumun ve ileum kısımlarından yapılan kesitlerde villi intestinalislerin lakteal kanallarında, genç, orta yaşlı veya tamamen olgunlaşmış 1. nesil şizontlar bulunmuştur. Olgun şizontların büyüklüklerinin ortalama 145 (100-189) × 115 (80-150) mikron olduğu, herbirinin binlerce merozoit ihtiva ettiğini dikkati çekmiştir. Merozoitlerin 11 (10-12) mikron uzunlukta oldukları görülmüştür. Şizontların mezenteriyal lenf yumrularıyla peyer plaklarında bulunmadıkları dikkati çekmiştir.

İnce barsağın aynı kısımlarında Lieberkühn bezlerinden bazılarının epitel hücreleri içinde ve villi intestinalisi örten epitel hücrelerde oldukça çok sayıda, ortalama 4.5 mikron büyüklükte trofozoitlerle olgun 2. nesil şizontlar görülmüştür. Olgun 2. nesil şizontların 12.5 (11-14) × (9-11) mikron büyüklükte oldukları ve içlerinde 8-16 adet merozoit ve belirli bir protoplazma kalıntısı bulunduğu saptanmıştır. Bu merozoitlerin 8-5 (6-9) mikron uzunlukta oldukları anlaşılmıştır.

İnokülasyondan 18 gün sonra ölen 1 kuzunun ince barsağında, villus ve Lieberkühn bezi epitel hücreleri içinde makrogamet, mikrogametosit ve oosistler görülmüştür. Olgun makrogametlerin ortalama 19 (14-26) × 15 (12-19) mikron, olgun mikrogametositlerin 18 (11-26) × 15 (11-19) mikron ve oositlerin ise 24.5 (21-28) × 16 (13-20) mikron boyutlarında oldukları saptanmıştır.

Eimeria arloingi ile inoküle edilen 16 oğlaktan inokülasyonu izleyen 3. günde kesilen birisi dışında hepsinin koksidioza yakalandığı yapılan muayenelerle anlaşılmıştır. Enfeksiyon hayvanlarda dışkıının yumuşaması ve ishal ile kendini göstermiştir. Cetvel 2 de görüldüğü gibi

Cetvel: 2 *E.arloingi* oosistleriyle inoküle edilen oğlaklarda meydana getirilen deneysel enfeksiyon sonuçları

İnoküle edilen oğlak sayısı	Verilen sporlu oosist sayısı (100.000 ×)	Prepatent periyod (gün olarak)	Oosist çıkarma durumu		Dışkıda değişikliğin meydana geldiği günlerin sayısı			
			En çok oosist çıktığı sırada		Dışkıda oosist çıkarma süresi (patent period)	Yumuşama	İshal	Kanlı ishal
			1 gr. dışkıda bulunan oosist sayısı (1000 ×)	İnoküasyondan sonra geçen günler				
2***	0.01	15-18	304-843	15-25	14-	1-5	2-6	0
2**	0.1	18-16	3980-4884	23-26	-	0-3	4-6	0
2***	0.5	16-16	3104-	24-	15-	2-0	8-0	0
2**	1	16-	289-	16-	-	1-	1-	0
2*	10	-	-	-	-	0-	1-	0
2*	25	-	-	-	-	0-	8-	0
2*	50	-	-	-	-	0-0	4-7	0
2**	100	15-	172-	17-	-	0-0	3-3	0
Ortalama		16.2	1939	20.8	14.5	1.1	4	0

* Prepatent dönemini tamamlamadan ölmüş veya kesilmişlerdir.

** Patent dönemini tamamlamadan ölmüşlerdir.

*** Sadece 1 tanesi patent dönemini tamamlamıştır.

ishalli dönem 1-8 gün devam etmiştir. İshalin başlamasından 1-2 gün önce ve ishal başladıktan sonra hayvanların iştahsız oldukları, sık sık su içtikleri ve neşelerini kaybedip durgunlaştıkları görülmüştür. Hastalığı ilerleyenlerin tüylerinin karıştığı, bellerinin kamburlaştığı ve yere yatıp ayağa kalkamadıkları gözlenmiştir. İnoküle edilen 16 oğlaktan 11 tanesi inokulasyondan 12-27 gün sonra, 12 oğlak ta sırasıyla inokulasyondan 35 ve 62 gün sonra ölmüşlerdir. Cetvel 2 nin incelenmesinden anlaşılacağı gibi enfekte oğlaklar ölmeden önce bunlar üzerinde sürdürülen incelemelerden, *E.arloingi*'nin prepatent süresinin 8 oğlakta 16.2 (15-18) gün, patent süresinin 2 oğlakta 14.5 (14-15) gün olduğu, 7 oğlakta inokulasyondan 20.8 (15-28) gün sonra dışkıda en çok sayıda oosist bulunduğu, bu esnada 1 mgr. dışkıda mevcut oosist sayısının 1939 (172-4484) olduğu görülmüştür.

Enfeksiyondan sonra ölen veya kesilen oğlakların otopsislerinde, ince barsakların dış görünüm itibariyle şişkin, gergin, dolgun ve hiperemik bir durumda olduğu, mezenteriyel lenf yumrularının büyüdüğü, ince barsak mukozasının ödemli, hiperemik ve kalınlaşmış olduğu, ince barsağın sulu bir içerikle dolu olduğu, 13-16 gün sonra ölenlerde bunlara ilâveten ince barsak mukozası üzerinde gayri muntazam kenarlı, 0.5 mm. çapında, sarımsı boz renkli odaklar bulunduğu görülmüştür.

Mikroskopik muayenelerde ise, parazitli villuslar hipertrofiye olmuşlar ve bunların kanalları da genişlemiştir. Ayrıca peyer plaklarında hiperplazi, parazitli villusların propria tabakasında mononuklear hücre infiltrasyonu dikkati çekmiştir. İleri devrelerde villusların üzerini kaplayan epitel hücreleri tamamen yerlerinden dökmüşlerdir.

Bu kısımlar tamamen parazitin gamontları ile istila edilmişlerdir. Bu gibi yerlerde propria mukoza ve submukozada mononuklear ve diğer tiplerde makrofoj hücre infiltrasyonlarına raslanmamıştır.

E. arloingi'nin 1 ve 2. nesil şizontları inokulasyondan 6-21 gün sonra ölen ya da kesilen oğlaklarda görülmüş, olgun 1. nesil şizontların 247 (139-359) mikron oldukları ve yüzbinlerce merozoit ihtiva ettikleri saptanmıştır. Merozoitler 10 (9-12) mikron uzunlukta ölçülmüşlerdir. Birinci nesil şizontlar ince barsakta villusların kilus kanallarında, Peyer plakları ve mezenteriyel lenf yumrularında da bulunmuşlardır. Olgun 2. nesil şizontlar 21.7 (11.4-44.4) mikron uzunlukta ölçülmüş, her şizontta 8-24 kadar merozoit ve bazılarında prop-lazma kalıntısı bulunduğu ve bunların 7-5 (4-10) mikron uzunlukta

oldukları saptanmıştır. İkinci nesil şizontlara Lieberkühn bezlerinin epitel hücreleri içinde raslanmıştır.

Eimeria arloingi'nin makrogametleri inokulasyondan 12-27 gün sonra ölen oğlakların ince barsaklarının duodenum, jejunum ve ileum kısımlarında özellikle plaklarda yığın halinde görülmüştür. Olgun makrogametler 25.4 (19.5-27.9) X 15.2 (13.9-19.5) mikron, olgun mikrogametositlerin 25.4 (19-34) X 16.7 (12.7-22.8) mikron büyüklükte oldukları saptanmıştır. Bunlara villusların ve Lieberkühn bezlerinin epitel hücreleri içinde raslanmıştır. Aynı yerlerde olgun *E. arloingi* oosistleri de bulunmuştur.

E. ovina ile inoküle edilen 4 oğlaktan 3 tanesinin dışkısında inokulasyondan 7, 28 ve 32 gün sonra oosistlere raslanmış (Cetvel 3) hatta bunu izleyen günlerde dahi bu hayvanların oosist çıkarmaya devam ettiği anlaşılmıştır. Dışkıda çıkan oosistlerin *E. arloingi* oosistlerinin karakterlerini taşıdıkları, yapılan muayenelerle anlaşılmıştır. Dışkısında oosist görülen oğlaklarda, koksidiozun tipik semptomları da görülmüştür. Bu oğlaklar inokulasyondan 21, 31 ve 34 gün sonra ölmüşlerdir.

Yapılan otopside oğlakların barsaklarında şiddetli lezyonlara raslanmıştır. Bunların *E. arloingi* ile inoküle edilen oğlaklarda saptanan lezyonlara benzediği yapılan makroskopik ve mikroskopik muayenelerden anlaşılmıştır. Bu oğlaklardan hazırlanan barsak kesitlerinde 1. ve 2. nesil şizontlar, makrogametler, mikrogametositler ve oosistler bulunmuştur. Bunların şekil ve barsaktaki lokalizasyonları bakımından *E. arloingi*'nin gelişme şekillerine tamamen uydukları görülmüştür.

E. ovina ile inoküle edilen bir oğlağın dışkısında oosiste raslanmamıştır. Esasen bu oğlak, projede öngörüldüğü için, enfeksiyondan 11 gün sonra kesilmiştir. Bunun otopsisinde koksidioza bağlı makroskopik ve mikroskopik bir lezyona raslanmamıştır. Barsak kesitlerinde *Eimeria* türleriyle ilgili herhangi bir çoğalma şekli de bulunmamıştır.

Bu deneyde kontrol olarak bırakılan 8 oğlağın hepsinin dışkısında deneye başladıktan 5-37 gün sonra oosistlere raslanmış ve bu halin devam ettiği günlük yoklamalarla saptanmıştır. Dışkıda bulunan oosistlerin tamamen *E. arloingi* oosistlerinin karakterlerini taşıdıkları, oosist çıkaran oğlakların da koksidiozun tipik semptomlarını gösterdikleri ortaya konmuştur. Oğlaklar deneye başladıktan 21-114 gün sonra ölmüşler (Cetvel 3) ve yapılan otopsislerinde barsakda

Cetvel: 3 *E.ovina* ile inoküle edilen oğlaklarla *E.arloingi* ile inoküle edilen kuzularda meydana gelen deneysel enfeksiyon sonuçları

Hayvanın		Verilen oosistin			Yumuşak dışkı çıkaran hayvan sayısı	İshal olan hayvan sayısı	Ölen hayvan sayısı	İnokülasyondan kaç gün sonra öldüğü	Postmortem bulgular
Türü	Sayısı	Türü	Sayısı* (100.000 ×)	Dışkıyla oosist çıkaran hayvan sayısı					
Oğlak	2	<i>E.ovina</i>	50	2	-	-	2	21,31	Barsakta lezyonlar, şizont ve gamontlar Barsakta lezyonlar, şizont ve gamontlar. Barsakta lezyonlar, şizont ve gamontlar
Oğlak	2**	<i>E.ovina</i>	100	1	-	-	1	34	
Oğlak	8	kontrol	-	8	-	-	8	21,48,55,65,80 25,97,114	
Kuzu	2	<i>E.arloingi</i>	50	2	-	-	0	-	Lezyon ve parazit yok
Kuzu	2**	<i>E.arloingi</i>	100	0	-	-	0	-	
Kuzu	6	kontrol	-	2	-	-	0	-	

* Bir hayvan verilen oosist sayısı

** Bu oğlak ve kuzulardan 1 er tanesi inokülasyondan 11 gün sonra kesilmiştir.

koksidioz ile ilgili yaygın makroskopik ve mikroskopik lezyonları göstermişlerdir. Lezyonlu yerlerden yapılan kesitlerde 1. nesil ve 2. nesil şizontlar, makrogametler mikrogametositler ve oosistler görülmüştür. Bunların şekil ve barsakdaki lokalizasyonları bakımından *E. arloingi*'nin gelişme şekillerine uyduğu saptanmıştır.

Eimeria arloingi ile inoküle edilen 4 kuzudan hiç birinde koksidioz semptomu görülmemiştir. Ancak, bu kuzulardan 2 tanesinin dışkısında inokülasyondan 7 ve 9 gün sonra bir kaç tane oosiste rastlanmıştır. Bunu takip eden günlerde, bu kuzular da az sayıda oosist çıkarmaya devam etmişlerdir. Bu kuzulardan 1 tanesi, projede ön görüldüğü için, inokülasyondan 11 gün sonra kesilmiş, fakat barsağın makroskopik ve mikroskopik muayenesinde koksidioz ile ilgili bir lezyona raslanmadığı gibi hazırlanan barsak kesitlerinde de parazitin gelişme safhalarının görülmediği ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, 6 kontrol kuzudan 2 tanesinin dışkısında deneye başladıktan 28-38 gün sonra oosistler bulunmuş ve deney bitimine kadar da dışkılarında az sayıda oosist çıkardıkları anlaşılmıştır.

Bu hayvanların koksidioz arazi göstermemiş olması dikkati çekmiştir.

Gerek *E. arloingi* oosistleriyle inoküle edilen ve gerek şahit bırakılan kuzulardan enfekte olanların dışkılarında görülen oosistleri *E. ovina* özelliklerini taşıdıkları görülmüştür.

Tartışma

Deneyssel olarak enfekte edilen kuzularda *E. ovina*'nın prepatent süresinin 19 gün, patent süresinin ise 10 gün olduğu saptanmış (6) iken, bizim deneylerde bu sürelerin sırasıyla 19 ve 15 gün olduğu ortaya çıkmıştır.

Diğer taraftan 5 milyondan fazla *E. ovina* oosistleriyle inoküle edilen kuzularda ishal, iştahsızlık ve zayıflamanın görüldüğü, fakat ölümün meydana gelmediği ileri sürülmüştür. İnokülasyondan 13-19 gün sonra kesilen kuzularda ince barsağın gergin, mukozanın ödemli, üzerinde kanama odaklarıyla yaygın plakların bulunduğu kaydedilmiştir. *E. ovina*'nın 1. nesil şizontlarının jejunumda villus kanalı endotel hücreleri içinde, makrogamet, mikrogamet ve oosistlerinin ise Lieberkühn bezleriyle villus epitelleri içinde geliştikleri; 1. nesil şizontların 146 mikron, merozoitlerin 9x2 mikron oldukları kaydedilmiştir. (5, 6). Bunlara ilaveten Lieberkühn bezlerinin epitel hücre-

leri içinde 10-14 x9-10 mikron büyüklükte 2. nesil şizontların bulunduğu da ileri sürülmüştür (9). Bütün bu bulgular genellikle bizim yaptığımız deneylerden alınan sonuçlara uymaktadır. Yalnız bizim inoküle ettiğimiz kuzulardan bir tanesi ölmüştür.

E. arloingi ile *E. ovina*'nın ilişkisini açıklığa kavuşturmak amacıyla 3-24 aylık 9 keçi 100.000 *E. ovina* oosistiyle, 1.5 aylık 3 kuzu 210.000 *E. arloingi* oosistiyle inoküle edilmiş, fakat bu hayvanlarda koksidioz'un meydana gelmediği, buna karşılık *E. ovina* oosistleriyle inoküle edilen 1.5-2 aylık 4 kuzuda koksidiozun kendini gösterdiği ileri sürülmüştür (5). Bundan dolayı bu parazitlerin, aynı türün ayrı 2 varyetesi olabileceği savunulmuştur. Aynı şekilde *E. arloingi* oosistleriyle inoküle edilen kuzularda koksidioz görülmediği halde, oğlaklarda enfeksiyonun meydana geldiği bildirilmiştir (11).

Diğer taraftan *E. ovina* ile inoküle edilen oğlakla, *E. arloingi* verilen kuzularda enfeksiyonun meydana gelmediğini; fakat *E. ovina* ile inoküle edilen kuzu ve oğlakların mezenteriyal lenf yumrularında şizontlara raslandığı bildirilmiştir. Ancak, kuzularda görülenin olgun, oğlaklarda görülenin deforme şizontlar olduğu kaydedilmiştir (7,8). Buna karşılık Deiana ve Delitala (2) *E. arloingi* ile inoküle ettikleri kuzuların dışkısında inokülasyondan 4-10 gün sonra oosistlere rasladıklarını bildirmişlerdir. Aynı şekilde biz de *E. arloingi* ile inoküle ettiğimiz 4 kuzudan 2 sinin dışkısından inokülasyonda 7-9 gün sonra az sayıda oosist gördük. Yalnız Deiana ve Delitala (2) ile bizim bulguların yapılan çapraz inokülasyonla ilgili olamayacağını, dışkısında oosist görülen kuzuların muhtemelen deneye alınmadan önce *E. ovina* ile enfekte olduklarını gösteren deliller vardır. Nitekim her iki deneyde de *E. arloingi* ile enfekte edildikten 4-10 gün sonra kuzuların dışkısında oosistler görülmüştür. Halbuki, bu süre *E. arloingi*'nin prepatent süresinde çok kısadır. Ayrıca, dışkıda bulunan oosistlerin tamamen *E. ovina*'nın karakterlerini taşıdıkları saptanmıştır. Diğer taraftan inoküle edilen 4 kuzudan sadece 2 tanesinin dışkısında oosistlere raslanmıştır. Bunlara ilaveten şahit bırakılan 6 kuzudan 2 sinin dışkısında da *E. ovina*'nın oosistleri bulunmuştur.

Keza, *E. ovina* ile inoküle ettiğimiz 4 oğlaktan 3 tanesinin dışkısında 7, 28 ve 32 gün sonra oosistlere raslanmış ve oğlaklarda şiddetli koksidioz meydana gelmiştir. Bu oğlaklar inokülasyondan 21, 31, 34 gün sonra ölmüşlerdir. Bu bulguların da yaptığımız çapraz inokülasyon ile ilgili olamayacağını, muhtemelen oğlakların deneye alınmadan önce veya deneylerin sürüldüğü sırada *E. arloingi* ile enfekte olduklarını

gösteren deliller mevcuttur. Nitekim, inokülasyondan 7,28 ve 32 gün sonra oğlakların dışkısında ilk defa oosistler görülmüştür. Bu sürelerden ilki *E.ovina*'nın prepatent süresinden çok kısa, diğer ikisi ise çok uzundur. Ayrıca, oğlakların dışkısında bulunan oosistlerin ölen oğlakların barsaklarında bulunan 1. ve 2. nesil sizontların, makrogamet mikrogametositlerin tamamen *E.arloingi*'nin karakterlerini taşıdıkları görülmüştür. Buna ilaveten *E. ovina* ile inoküle edilen oğlaklardan bir tanesinde enfeksiyon meydana gelmemiştir. Nihayet, kontrole bırakılan 8 oğlağın hepsi tabii olarak *E. arloingi* enfeksiyonuna yakalanmış ve ölmüşlerdir.

Bütün bunlar, gerek oğlaklarda ve gerekse kuzularda, çapraz inokülasyon sonunda ortaya çıkan durumun, oğlakların *E. arloingi* ve kuzuların *E. ovina* ile tabii enfeksiyona yakalanmış bulduklarının bir sonucu olduğunu göstermektedir. Böylece, çapraz inokülasyonlardan aldığımız sonuçlar çeşitli araştırmacıların *E. arloingi* ile kuzuların, *E. ovina* ile oğlakların enfekte edilemeyecekleri şeklindeki görüşlerini destekler niteliktedir.

Çapraz inokülasyon deneyleriyle elde edilen bulgulara ek olarak *E. ovina*'nın koyunlardaki prepatent süresinin 19, patent süresinin 10 gün olduğu bildirilmiştir (6). Bizim çalışmamızda bu süreler sırasıyla 19 ve 15 gün olarak tesbit edilmiştir. Ayrıca, *E. arloingi*'nin keçilerdeki prepatent süresinin 16 gün, patent süresinin ise 14 gün olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca, *E. ovina* oocystlerinde yan kenarlar birbirlerine paralel iken *E. arloingi* oosistlerinde bunların eliptik olduğu saptanmıştır. Diğer taraftan, *E. ovina*'nın 1. nesil olgun sizontlarının *E. arloingi*'ninkinden daha küçük olduğu da tesbit edilmiştir. Bütün bu bulgular *E.arloingi* ile *E. ovina*'nın bağımsız birer tür olduklarını göstermektedir. Buna karşılık, her iki türün aseksüel ve seksüel gelişme şekillerinin barsağın aynı bölgelerinde ve aynı tip hücreler içinde yer almaları ve aralarında morfolojik benzerliğin bulunması iki tür arasında yakın filogenetik ilişki bulunduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, *E. ovina* ile *E. arloingi*'nin bağımsız birer tür oldukları; *E.ovina*'nın oğlaklarda, *E.arloingi*'nin kuzularda enfeksiyon meydana getirmedeği bu çalışma ile ortaya çıkmıştır.

Literatür

1. **Balozet, L.** (1932): *Les coccidies du mouton et de la chèvre. Cycle évolutif de Eimeria ovina-kohl-yakimovi Yakimoff et Rastegieva* 1930. Arch. Ins. Past. Tunis, 21: 28-118.

2. **Deiana, S. and Delitala, G.** (1953): *La coccidiosi dei piccoli ruminanti. Nota: 1- Rilevi morfologici e biologici sui coccidi repartati in alcuni caprini della sardegna (E. arloingi Marotel, 1905).* Riv. Parasit., 14: 165-170.
3. **Krylov, M.V.** (1961): *Parazito-khozyainnava speifitschnost koksidii ovets ikoz.* Trudy Inst. Zool. Parasit. Akad. E.N. Pavlov Tadz. SSR. 22: 7-14.
4. **Levine, N.D. and Ivens V.** (1970): *The Coccidian parasites (Protozoa, Sporozoa) of Ruminants.* Illinois Biological Monographs 44, University of Illinois Press., 278.
5. **Lotze, J.C.** (1952): *The pathogenicity of the coccidian parasite, E. arloingi, in domestic sheep.* Cornell Vet., 42: 510-517.
6. **Lotze, J.C.** (1953): *Life history of the coccidian parasite, E. arloingi, in domestic sheep.* The American J. Vet. Res., 15., (50): 86-95.
7. **Lotze, J.C. Leek, R.G. Shalkop, W.T. and Behir,** (1961): *Coccidian parasites in the "wrong host" animal.* J. Parasit., 47 (suppl.): 34.
8. **Lotze, J.C., Shalkop, W.T., Leek, R.G. and Behir, R.** (1964): *Coccidian schizonts in mesenteric lymph nodes of sheep and goat.* J. Parasit., 205-208.
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. **Pellerdy, L.P.** (1974): *Coccidia and Coccidiosis.* Akad. Kiado Budapest, pp. 959.
11. **Tsygankov, A.A., Paichuk, N.G., Balbaeva, Z.A.** (1963): *O spetsifichnosti koksidii ovets, koz i saigakov.* Trudy Inst. Zool. Akad. Nauk. Kazakh. SSR 19: 55-57.