

TOXOCARA CANİS YUMURTALARINA VE VİSCERAL LARVA MİGRANS' A RADYASYONUN ETKİLERİ¹

Semih ÖGE²

The effects of radiation on *Toxocara canis* eggs and visceral larva migrans

Summary: *This study was under taken to investigate the effects of radiation on the development of Toxocara canis eggs and on visceral larva migration in mice.*

In the first part, unsegmented T. canis eggs were irradiated with 5 to 300 krads and a group of eggs not subjected to radiation were set aside as controls. It was seen that the larval development inside the eggs decreased with increasing radiation doses. Above 60 krads, development ceased completely. Apart from this, destruction of the egg shell and defects in blastomere development were seen.

In the second part, T. canis eggs harbouring the 2nd stage larvae (infective) were irradiated with doses of 50,100,150 and 300 krads and a group of infective eggs containing larvae were left unirradiated as the controls. All the mice were infected with 2000 eggs as described above and autopsies were performed 2nd, 5th, 7th and 15th days after infection. As a result of the increasing radiation doses not only was there a limited invasion of organs and tissue type by larvae but also there was a general decrease in larval numbers. The radiation dose which prevented visceral larva migration was determined as 300 krad.

It was also seen that unsegmented T. canis eggs were more sensitive to radiation than eggs harbouring infective larvae.

Özet: *Bu çalışma, radyasyonun Toxocara canis yumurta gelişimine ve farelerdeki iç organ larva göçüne etkisini incelemek amacıyla yapılmıştır.*

İlk bölümde, tek blastomerli T. canis yumurtaları 5-300 krad arasında irradie edilmiş ve bir grup yumurta da kontrol olarak tutulmuştur. Yumurta içindeki larva gelişiminin, radyasyon doz artışına bağlı olarak azaldığı ve yumurta gelişiminin 60 krad'dan itibaren durduğu saptanmıştır. Ayrıca radyasyona bağlı olarak yumurta kabuğunda yıkımlanmalar ve blastomer gelişiminde bozulmalar görülmüştür.

İkinci bölümde, enfektif 2. dönem larva taşıyan T. canis yumurtaları 50,100,150 ve 300 krad'da irradie edilmiş, bir grup larvalı yumurta ise irradie edilmeden kontrol grubu olarak tutulmuştur. Fareler, yukarıda tanımlandığı şekilde 2000 larvalı yumurta ile enfekte edilmiş ve enfeksiyondan sonraki 2., 5., 7. ve 15. günlerde otopsilere yapılmıştır. Uygulanan radyasyon dozlarında, doz artışına bağlı olarak larvaların bulunduğu organ ve doku çeşidinin sınırlandırılmasının yanı sıra larva sayılarında da azalmaların görüldüğü saptanmıştır. İç organ larva göçünün engellendiği dozun ise 300 krad olduğu belirlenmiştir.

Ayrıca, tek blastomerli T. canis yumurtasının enfektif ikinci dönem larva bulunan yumurtaya göre radyasyona daha duyarlı bulunduğu gözlenmiştir.

¹ Aynı başlıklı Doktora tezinden özetlenmiş olan bu çalışma A.Ü. Araştırma Fonu tarafından 90.30.00.06 nolu proje olarak desteklenmiştir.

² Dr. Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fak. Helminoloji Bilim Dalı, Ankara.

Giriş

Toxocara canis (Werner, 1782), başta köpek olmak üzere tilki, kurt, çakal gibi etçil hayvanların ince bağırsaklarında yaşayan bir nematodtur. Ovipar olan parazitin yumurtaları 75-95µ büyüklükte, yuvarlağa yakın, bazen de oval formdadır (14, 17).

Visceral larva migrans (iç organ larva göçü), bazı helmintlerin bilhassa nematod larvalarının normal konaklar dışında özellikle de insanların iç organ ve dokularında yaptıkları göç olayına verilen addır. Bugün, çeşitli konaklarda iç organ larva göçüne neden olan pek çok helmint biliniyorsa da bu sendromdan birincil olarak sorumlu parazit *T. canis*'tir (14, 27, 30, 36).

İç organ larva göçü konusunda yapılan deneysel çalışmalarda farelerin iyi bir deney hayvanı olduğu belirtilmiştir (20, 29). Farelerde *T. canis* larvalarının göçü konusunda yapılan çalışmalarda (1, 2, 9, 12, 24, 25, 39) enfeksiyonun ilk günlerinde, larva yoğunluğunun karaciğer ve akciğerlerde olduğu, ancak ilerleyen zaman içerisinde bu yoğunlaşmanın diğer organlarla beraber beyin ve kaslarda da görüldüğü vurgulanmıştır. Larvaların gözde görülmesini, Burren (12) 12-15. günler arasında, Ghafoor ve ark. (16) 6. günden sonra bildirmektedirler.

Helmintlerin radyasyon ışınlarından etkilenmesi, ilk kez *Trichinella spiralis*'in gelişimine X ışınlarının etkisi araştırılırken gözlenmiştir (11). Daha sonraki yıllarda çeşitli radyasyon kaynakları kullanılarak, trematodlar (3, 15, 18, 31, 33), sestodlar (22, 38, 40) ve nematodlar (7, 13, 21, 23, 26, 34) üzerinde, parazitlerin enfektivitelerinin azaltılması ve konakçının bağışık kılınması konularında detaylı bilgiler elde edilmiştir. Ancak, askaritler ve iç organ larva göçü konusunda radyasyon çalışmaları çok sınırlı kalmıştır (8, 10, 19, 35, 37).

İrradiye edilen *Ascaris lumbricoides* ve *T. canis* yumurta kabuklarında bazı morfolojik bozulmaların yanı sıra, embriyo yapısında da radyasyonla ilgili yıkımlanma ve değişimlerin olduğu ve buna bağlı olarak da larvanın %1 gibi düşük oranda geliştiği ya da hiç gelişmediği belirtilmiştir (10, 37). Yine, *A. lumbricoides* (37) ve *Ascaris suum*'un (35) irradiye larvalı yumurtaları ile enfekte edilen konaklarda larval göçün 150 krad'dan itibaren önlenemediği saptanmıştır.

İrradiye ikinci dönem larvalı *T. canis* yumurtası ile enfekte edilen farelerde yapılan çalışmalarda (8, 19), 80 krad ve yukarı dozların, larvaların çoğu için öldürücü olduğu ve enfeksiyon oranının %1 gibi çok düşük düzeyde kaldığı saptanmıştır.

Türkiye'de helmintoloji alanında radyasyonla ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Tiğin (32), *Coenurus cerebralis* skolekslerinin canlılıklarını, 20 krad'dan itibaren yitirdiklerini belirtmiş, aynı araştırmacı (33) 2,5 krad'dan yukarı dozlarla irradiye edilen *Fasciola hepatica* yumurtalarından miracidium çıkmadığını kaydetmiştir. Burgu (11), *Echinococcus granulosus* protoskolekslerine uygulanan 150 krad'dan daha yüksek dozların farelerde sekonder kist oluşumunu önlediğini bildirmiştir. İrradiye edilmiş *Trichostrongylus colubriformis* ve *T. vitrinus* larvaları ile bağışık kılınan konaklarda, yinelenen enfeksiyonlara karşı direncin geliştiği belirtilmiştir (4, 5). Başka bir çalışmada (6), *Cysticercus bovis* kistlerinin canlılığına etkili radyasyon dozunun 3.7 k Gy olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada, Cecium 137 kaynağı kullanılarak radyasyonun *T. canis* yumurta gelişimine ve farelerde irradiye ikinci dönem larvalı *T. canis* yumurtasının iç organ larva göçüne etkisini inceleyerek bu konudaki literatür eksikliğini doldurmak ve ileride yapılabilecek konağı bağışık kılma, sterilizasyon gibi değişik çalışmalara ışık tutmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

1-Yumurta toplanması: Ankara'nın farklı belediyelerinde sokak köpekleriyle mücadele programı çerçevesince öldürülen 167 köpeğin bağırsakları kontrol edilerek olgun *Toxocara canis*'ler toplanmıştır. Dişi parazitlerin çıkarılan uterusları, %1'lik NaOCl bulunan petri kutularında bisturi ile parçalanmıştır. Bu karışım 10 dakika manyetik karıştırıcıda tutularak elde edilen yumurta süspansiyonu kapa partiküllerden arındırılmak için çay süzgeçinden (göz açıklığı 150 µ) süzülmüştür. Yumurta süzüntüsü %1 NaOCl solüsyonu ile 3 kez 2000 devirde 3 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra dipteki tortu aynı santrifüj değerlerinde %0.5'lik formol ile 3 kez santrifüje edilmiştir. Bu işlemlerden sonra toplanan yumurtalar bir plastik kapta ve %0.5 formol içinde +4°C de kullanım zamanına kadar saklanmıştır.

2-Yumurtaların radyasyon uygulamasına hazırlanması: Formol içindeki yumurtalar distile su ile 3 kez 2000 devirde 3 dakika santrifüj edilerek yıkanmıştır. Plastik kap içine alınan yumurtaların üzerine distile su ilave edilerek hazırlanan yumurta süspansiyonundaki ortalama tek segmentli yumurta sayısı, 10 örnek alınarak hesaplanmıştır. her radyasyon doz grubu ile kontrol grubu için yeterli sayıda yumurta küçük cam şişelere konulmuştur.

Diğer bir grup yumurta, içinde ikinci dönem larvanın gelişimi için %0.5'lik formolde

26-28°C ye ayarlı etüvde 4-5 hafta süreyle bırakılmıştır. Enfektif larvalar geliştikten sonra, yumurta süspansiyonu fizyolojik tuzlu su ile 3 kez 2000 devirde 3 dakika santrifüj edilmiştir. Toplanan yumurtalar bir plastik kaba alınarak fizyolojik tuzlu su ile dilue edilmiş ve içlerinde hareketli larvaları barındıran ortalama yumurta sayıları 10 örnek alınarak hesaplanmıştır. Her radyasyon doz grubu ile kontrol grubundaki fareleri enfekte edebilecek larvalı yumurta sayısı (0.5 cc fizyolojik tuzlu su içinde 2000 larvalı yumurta) hesaplanarak küçük cam şişelere aktarılmıştır.

3-Radyasyon kaynağı ve uygulanması: Bu çalışmada, Lalahan ve Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü'nde bulunan ve Gamma ışınları veren Cesium 137 kaynağı kullanılmıştır. Işınlama kaynağının dozu D:3.1 krad/dakika olarak hesaplanmış ve bu değer dikkate alınarak ışınlama süreleri saptanmıştır.

Tek blastomerli yumurtaların 50, 100, 150 ve 300 krad'da irradiye edilmeleri kararlaştırılmış, ancak araştırma süresince daha düşük dozlara da ihtiyaç duyulmuş ve 5, 10, 20, 30, 40, 60, 70, 80 ve 90 krad'da yeni ışınlamalar yapılmıştır. İrradiye işleminden sonra yumurtalar 30 gün süreyle 26-28°C ye ayarlı etüvde tutulmuşlardır. Her gruptan her gün düzenli olarak alınan 5'er örnek lam-lamel arasında mikroskopta incelenerek yumurta içlerindeki gelişme oranları kaydedilmiştir.

İçlerinde ikinci dönem larva barındıran yumurtalar ise 50, 100, 150 ve 300 krad'da irradiye edilmiştir.

4- Deneysel hayvanı, enfekte etme ve otopsi: Deneysel hayvanı olarak her radyasyon doz grubu ile pozitif ve negatif kontrol grupları için 12 şer adet, 4-8 haftalık, beyaz, erkek fareler (*Mus musculus var. albinus*) kullanılmıştır. Radyasyon gruplarında bulunan farelere 0.5 cc fizyolojik tuzlu su içinde 2000 irradiye larvalı yumurta, pozitif kontrol grubundaki farelere 0.5 cc fizyolojik tuzlu su içinde 2000 irradiye edilmeyen larvalı yumurta, negatif kontrol grubu farelere ise 0.5 cc fizyolojik tuzlu su, oral yolla verilmiştir.

Otopsiler, larvaların enfeksiyonu takiben belirli organ ve dokulara ulaşabilecekleri günler ile larval göçün sona erdiği süre dikkate alınarak 2., 5., 7. ve 15. günlerde yapılmıştır (1, 2, 9, 12, 24, 25, 39). Negatif kontrol grubundaki farelerin otopsileri ise 15. günde yapılmıştır. Eterle bayıltılarak öldürülen farelerin göğüs ve karın boşluğu ile mide ve bağırsakları fizyolojik tuzlu su ile yıkanmıştır. Karaciğer, akciğer, kalp, dalak, böbrekler, mezenter lenf yumuruları,

testisler, mide, bağırsak, arka ve ön bacak kasları, göğüs kasları, beyin ve gözler (bu son iki organ fizyolojik tuzlu su içinde) ayrı ayrı petri kutuları içine alınmıştır. Göğüs ve karın boşluğu sıvıları ile mide ve bağırsak içeriği doğrudan stereomikroskopta, beyin ve gözlerden hazırlanan ezme preparatları ışık mikroskobunda incelenmiştir. Diğer organ ve dokulardaki larvaları toplamak için Sprent'in tekniği (28) esas alınmıştır. Organ ve dokular, makas ve bistüri ile mümkün olduğunca küçük parçalara ayrılmış ve hazırlanan pepsin solüsyonu (988 cc %0.85 fizyolojik tuzlu su+5 gr pepsin+7 cc HCl) içinde 37°C de 10-12 saat dokuların erimesi ve larvaların açığa çıkması için etüvde bekletilmiştir. Bu süre sonunda doku süspansiyonları, çay süzgecinden süzülmüş ve süzüntü 2000 devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir. Dipte kalan larvalı tortu petri kutusuna aktararak stereomikroskopta incelenmiş ve larva sayımları yapılmıştır.

Gruplar arasındaki farklılığın istatistik açıdan önemli olup olmadığı ise

$$X^2(X^2 = \frac{\sum_i \sum_j (g_{ij} - b_{ij})^2}{b_{ij}})$$

testi ile hesaplanmıştır.

Bulgular

İlk bölümde; radyasyonun, *Toxocara canis* yumurta gelişimine etkisi incelenmiş, tek blastomerli yumurtalara uygulanan farklı radyasyon dozları ile kontrol grubunda, günlere göre yumurta gelişim sonuçları Tablo 1,2 ve 3'de verilmiştir. Tablo 1'in incelenmesinde görüleceği gibi radyasyon doz grupları ile kontrol grubunda blastomer gelişimi 1. günde başlamış, ancak larva gelişimi sadece 50 krad ile kontrol gruplarında 3. günden itibaren gözlenmiştir. Tüm çalışma süresince larvalı yumurta oranı 50 krad'da kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde gerçekleşerek 30. günde 50 krad'da %3 iken kontrol grubunda %28.44 saptanmıştır. Diğer radyasyon gruplarında ise (100, 150 ve 300 krad'da) yumurta içindeki gelişim sadece blastomer bölünmesi düzeyinde kalmış ve larva gelişimi saptanamamıştır.

Toxocara canis yumurtalarına uygulanan 5, 10, 20, 30 ve 40 krad ile kontrol grubunda larva gelişimi saptanmıştır. Ancak, radyasyon doz artışına bağlı olarak larvalı yumurta oranında azalma meydana gelmiştir. Çalışmanın 30. gününde larvalı yumurta oranları 5 krad'da %13.85, 10 krad'da %9.95, 20 krad'da %6.69, 30 krad'da %3.50, 40 krad'da %1.51 ve kontrol grupta %14.00 bulunmuştur (Tablo 2)

Tablo 1: Farklı radyasyon grupları ve kontrol grubundaki yumurta gelişiminin (blastomer-larva) günlere göre dağılımı (%)
Table 1. The distribution of egg development (blastomere-larvae) in different irradiation and control groups in according to days (%)

Süre (Gün)	50 krad		100 krad		150 krad		300 krad		Kontrol	
	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.
1. gün	15.36	-	12.57	-	16.07	-	20.35	-	20.35	-
3. gün	16.71	2.20	11.76	-	15.94	-	17.40	-	9.19	16.95
7. gün	13.60	3.02	12.50	-	17.82	-	17.71	-	10.13	13.51
14. gün	17.42	1.82	19.76	-	19.03	-	21.10	-	3.80	27.16
21. gün	18.46	1.84	15.70	-	18.84	-	17.92	-	0.62	23.07
28. gün	17.82	2.39	17.01	-	21.22	-	17.79	-	0.73	36.46
30. gün	17.20	3.00	16.61	-	17.97	-	21.06	-	0.78	28.44

B.y.: Blastomerli yumurta
L.y.: Larvalı yumurta

Tablo 2: Farklı radyasyon grupları ve kontrol grubundaki yumurta gelişiminin (blastomer-larva) günlere göre dağılımı (%)
Table 2. The distribution of egg development (blastomere-larvae) in different irradiation and control groups in according to days (%)

Süre (Gün)	5 krad		10 krad		20 krad		30 krad		40 krad		Kontrol	
	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.
1. gün	21.18	-	21.54	-	7.55	-	11.08	-	13.07	-	20.35	-
3. gün	15.50	3.03	18.50	5.80	11.41	6.30	18.02	4.78	18.99	1.20	10.12	16.16
7. gün	5.09	7.84	8.78	3.84	8.25	7.03	10.98	4.09	16.27	2.32	3.83	15.89
14. gün	4.78	11.66	8.70	7.15	11.71	7.88	14.01	3.38	14.97	0.99	4.84	17.25
21. gün	3.23	15.33	4.44	9.84	12.22	8.77	14.27	4.34	19.75	1.23	2.83	15.04
28. gün	3.37	14.11	8.44	11.29	13.08	7.16	14.34	4.68	19.86	1.46	4.38	14.89
30. gün	2.51	13.85	6.42	9.95	14.33	6.69	12.85	3.50	19.91	1.51	2.26	14.00

B.y.: Blastomerli yumurta
L.y.: Larvalı yumurta

Tablo 3: Farklı radyasyon grupları ve kontrol grubundaki yumurta gelişiminin (blastomer-larva) günlere göre dağılımı (%)
Table 3. The distribution of egg development (blastomere-larvae) in different irradiation and control groups in according to days (%)

Süre (Gün)	60 krad		70 krad		80 krad		90 krad		Kontrol	
	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.	B.y.	L.y.
1. gün	29.90	-	28.57	-	29.72	-	27.71	-	47.82	-
3. gün	36.27	-	34.35	-	35.67	-	33.67	-	0.49	33.10
7. gün	35.43	-	33.16	-	33.00	-	30.10	-	0.37	34.59
14. gün	35.54	-	30.65	-	30.34	-	28.64	-	-	33.81
21. gün	33.95	-	31.06	-	30.43	-	27.94	-	0.09	34.90
28. gün	35.04	-	33.33	-	29.66	-	28.50	-	0.28	33.81
30. gün	30.70	-	30.76	-	29.90	-	29.26	-	0.18	34.59

B.y.: Blastomerli yumurta
L.y.: Larvalı yumurta

Tablo 4: Farklı radyasyon grupları ve kontrol grubundaki larva sayıları ve (%)leri
Table 4: The numbers and percentages of larvae in different irradiation and control groups.

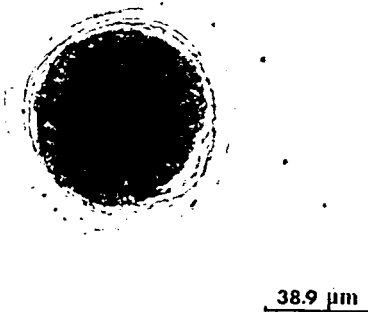
Radyasyon Dozu (Krad)	Larva sayıları ve (%) leri					
	Minimum		Maksimum		Ortalama	
	sayı	%	sayı	%	sayı	%
50	23	1.15	434	21.70	102.42	5.12
100	10	0.50	142	7.10	64.86	3.24
150	10	0.50	57	2.85	22.29	1.11
300	1	0.05	46	2.30	12.48	0.62
K (+)	36	1.80	311	15.55	129.49	6.47

K (+)=Pozitif kontrol

Tablo 3'de görüleceği gibi 60, 70, 80 ve 90 krad'da irradie edilen tek blastomerli yumurtalarda, 30 gün süresince larva gelişimi saptanmamış, kontrol grubunda ise 30. gündeki larvalı yumurta oranı %34.59 bulunmuştur.

Yapılan istatistik analizde, larvalı yumurta oranlarındaki farklılık, hem radyasyon grupları ile kontrol grupları arasında hem de farklı radyasyon doz grupları arasında önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca, radyasyona bağlı olarak yumurta kabuğunda ve blastomer bölünmesinde bazı bozulmalar saptanmıştır (Şekil 1, 2).

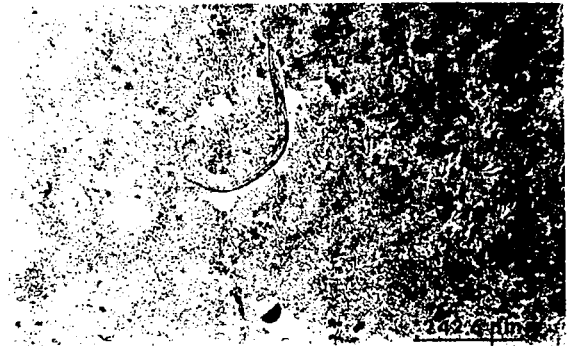
İkinci bölümde; *T. canis*'in iç organ larva göçüne radyasyonun etkisini saptamak amacıyla farelere değişik radyasyon dozlarıyla irradie edilen ve edilmeyen ikinci dönem larva taşıyan *T. canis* yumurtaları verilmiş ve belli günlerde yapılan otopsilerden toplanan larva sayıları ile yüzdeleri Tablo 4'de verilmiştir. Tablodan da görüleceği gibi kontrol grubuna en yakın larva sayısı 50 krad'da (ort. 102.42) bulunmuş ve radyasyon doz artışına bağlı olarak larva sayısının gittikçe azaldığı saptanmıştır. Hem kontrol grubu ile radyasyon doz gruplarındaki larva oranları arasında hem de farklı radyasyon doz grupları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).



Şekil 1: 300 krad'da irradie edilen *Toxocara canis* yumurtasının kabuk yapısında bozulma
Figure 1: The deformation on the egg shell of the *T. canis* irradiated with 300 krad



Şekil 2: 150 krad'da irradie edilen *Toxocara canis* yumurtasının blastomer gelişiminde bozulma
Figure 2: The deformation in blastomere development of the *T. canis* irradiated with 150 krad



Şekil 3: Kontrol grubundaki bir farenin beyin dokusundan hazırlanan preparatta *Toxocara canis* larvası
Figure 3: The larvae of *T. canis* prepared from the brain tissue of control group's mice

Göç eden larvaların organ, doku ve vücut boşluklarındaki dağılımları, radyasyon ve kontrol gruplarında farklılık göstermiştir (Tablo 5). Larvalar 50 krad ve kontrol grubunda, hemen hemen tüm organ ve dokularda bulunmuştur (Şekil 3). Hem kontrol grubunda hem de 50, 100 ve 150 krad'da larvalar en çok karaciğer ve akciğerde bulunmuş, ancak 150 krad'da larvaların bulunduğu organ ve doku çeşidinin azaldığı görülmüştür. Beyin larva göçü, 150 krad'dan iti-

baren durmuş ve gözlerde sadece kontrol grubunda larva saptanmıştır. Larvalar, 300 krad'da ise sadece bağırsak, mezenter lenf yumruları ve mide de bulunmuştur. Negatif kontrol grubunda ise hiçbir larva bulunmamıştır.

Tablo 6'da farklı radyasyon doz ile kontrol gruplarında otopsi günlerine göre organ ve dokulardaki ortalama larva sayıları verilmiştir. Larvalar, 50 krad ve kontrol gruplarında aynı otopsi günlerinde hemen hemen aynı organ ve dokularda bulunmuştur. Daha yüksek dozlar olan 100 ve 150 krad'da ise larvaların organ ve dokulara dağılımları 5. ve 7. günlerden itibaren meydana gelmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Radyasyonun helmintlerin gelişimi üzerine etkisi çeşitli araştırmacılar tarafından araştırılmıştır (10,33, 37). Villella ve ark. (37), *A. lumbricoides* yumurtasında 100 krad'dan daha yüksek dozlarda larva gelişemediğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada, *T. canis* yumurtasında 60 krad'dan itibaren larva gelişiminin durduğu, bu dozun *A. lumbricoides* yumurtası için bildirilen dozdan daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Yüksek radyasyon dozlarında *T. canis* yumurta kabuğunu oluşturan tabakaların birbirleri ile olan bağlantılarının koptuğu, kabuk bütünlüğünün bozulduğu ve yumurtadaki blastomer bölünmesinde de bazı bozulmaların olduğu belirtilmiştir (10, 37). Bu çalışmada da, 150 ve 300 krad'da benzer sonuçlar alınmıştır.

Enfektif *A. lumbricoides* yumurtasının larvasız yumurtaya göre radyoaktif ışınlardan daha fazla etkilendiği belirtilmiştir (37). Ancak Kamiya ve ark. (19), embriyolu *T. canis* yumurtasının tek blastomerli yumurtaya göre radyasyona daha dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada tek blastomerli yumurtaların, 2. dönem larva taşıyan yumurtalara göre radyasyona daha duyarlı bulunması Kamiya ve ark. (19)'nın sonuçları ile benzerlik göstermiştir.

Askaritlerin neden olduğu iç organ larva göçü konusundaki radyasyon çalışmalarında (8, 19, 35, 37), enfektif larvaların göç etmelerine karşı etkili radyasyon dozunun, trematod (3, 15, 18, 33), sestod (22, 38, 40) ve diğer nematodlara (7, 13, 21, 34) uygulanan dozlardan daha yüksek olduğu ve bunun için 100 krad veya yukarı dozlara gereksinim duyulduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada da, iç organ larva göçünü engelleyebilen radyasyon dozu 300 krad bulunmuş ve ilgili literatürlerle (8, 19, 37) benzerlik göstermiştir. Ayrıca 50, 100, 150 ve 300 krad uygulanan enfektif *T. canis* yumurtası alan farelerde, doz artışına bağlı olarak enfeksiyon oranlarında azalma gözlenmiş ve sonuçlar kont-

rol grubunun altında bulunmuştur. Bu sonuçlar benzer çalışmaların sonuçlarıyla paralellik göstermiştir (8, 19).

Kemiricilerde yapılan çalışmalarda (1, 12, 24, 25, 39), *T. canis* larvalarının en çok karaciğer, akciğer, beyin ve kaslarda bulunduğu belirtilmiş, bu çalışmada ise larvaların en çok yukarıda anılan organlarda olmasının yanısıra mezenter lenf yumrularında da bulunduğu gözlenmiştir.

Farelerde yapılan çalışmalarda, radyasyon doz artışına bağlı olarak larvanın görüldüğü organ ve doku çeşidinin sınırlandığı (8, 19), ayrıca 5-40 krad'da larva saptanan organ ve dokuların kontrol grubu ile benzer bulunduğu belirtilmiştir (19). Bu çalışmanın sonuçları yukarıdaki bulgularla benzer bulunmuş, ancak Barriga ve Myser'in (8) 150 krad'da beyin ve kaslarda bulunduğunu belirttiği larvalara bu çalışmada 150 krad'da aynı bölgelerde rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, kontrol grubu farelerde enfeksiyonun 2. gününde bağırsaklarda larva bulunmazken, karaciğer ve akciğerdeki larva artışı 5. günden sonra şekillenmiştir. Diğer organ ve dokulardaki larva artışı ise 5-7. günlerden sonra meydana gelmiş ve sonuçlar ilgili çalışmalarla (1, 2, 9, 12, 24, 25, 39) paralellik göstermiştir. Larvaların gözde, 6. gün (16) ile 12-15. günler (12) arasında bulunabileceği belirtilmiş, bu çalışmada ise gözde larvanın ilk kez 7. günde saptanması Ghafoor ve ark. (16) nın çalışma sonuçlarına yakın olmuştur.

Farelere 100 ve 150 krad'da irradiye verilen *T. canis* larvaları, karaciğer ve akciğer dışındaki organlar ile dokularda 7. günden sonra saptanmış, 300 krad'daki larvalar ise sadece bağırsak, mezenter lenf yumruları ve mide de bulunmuştur. Bu farklılıkta, yüksek radyasyon dozlarının larvaların organ ve dokulara ulaşmalarını geciktirici ve engelleyici olduğunu bildiren araştırmacılar (9, 19) ile aynı görüş paylaşılmaktadır.

Sonuç olarak; tek blastomer safhasında uygulanan radyasyon dozlarında enfektif *T. canis* larva gelişiminin 60 krad'dan itibaren durduğu, yüksek dozlarda ise yumurtada bazı morfolojik değişikliklerin olduğu belirlenmiştir. İkinci dönem larva safhasında uygulanan radyasyon dozlarında ise doz artışına bağlı olarak konakçıda iç organ larva göçünde, hem larvanın bulunduğu organ ve doku çeşidinin sınırlı kaldığı, hem de larva sayılarının azaldığı, yüksek dozlarda da larvaların belirli organlarda birikim yaptığı saptanmış, iç organ larva göçünü engelleyebilen dozun 300 krad olduğu belirlenmiştir.

Tablo 5: Farklı radyasyon grupları ve kontrol grubunda bulunan farelere ait organ, doku ve vücut boşluklarındaki ortalama larva sayıları
 Table 5: The mean numbers of larvae found in organ, tissue and body cavity of mice in different irradiation and control groups

Radyasyon dozu (Krad)	Kontrol edilen organ, doku ve vücut boşlukları															
	Mi.	Bağ.	A.c.	Ka.	Tes.	M.l.y.	K.c.	Da.	Böb.	G.k.	A.b.k.	Ö.b.k.	Bey.	Göz.	K.b.	G.b.
50	0.74	3.08	22.08	2.99	0.16	3.58	56.66	0.91	2.49	2.08	1.49	1.58	4.33	-	0.25	-
100	0.99	14.41	13.08	-	0.33	3.33	31.08	0.66	0.33	-	0.08	-	0.33	-	0.16	0.08
150	0.66	4.41	7.49	-	-	2.66	6.91	0.08	-	-	-	-	-	-	0.08	-
300	0.91	9.91	-	-	-	1.33	-	-	-	-	-	-	-	-	0.33	-
K (+)	1.08	0.08	24.16	3.16	0.99	6.08	71.82	1.41	2.66	4.74	3.33	2.08	7.33	0.33	0.24	-
K (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Mi.: Mide Bağ.: Bağırsak A.c.: Akciğer Ka.: Kalp Tes.: Testisler M.l.y.: Mezenter lenf yumruları K.c.: Karaciğer Da.: Dalak Böb.: Böbrekler
 G.k.: Göğüs kasları A.b.k.: Arkabacak kasları Ö.b.k.: Önbacak kasları Bey.: Beyin Göz.: Gözler K.b.: Karın boşluğu G.b.: Göğüs boşluğu
 K(+): Pozitif kontrol grubu K(-): Negatif kontrol grubu

Tablo 6: Otopsi günlerine göre farklı radyasyon grupları ve kontrol grubunda bulunan farelere ait organ, doku ve vücut boşluklarındaki ortalama larva sayıları ve (%) leri
 Table 6: The mean numbers and percentages of larvae found in organ, tissue and body cavity of mice in different irradiation and control groups in according to autopsy days

Enfeksiyon sonrası otopsi zamanı (Gün)	Radyasyon dozu (Krad)	Kontrol edilen organ, doku ve vücut boşlukları																Ortalama larva	
		Mi.	Bağ.	A.c.	Ka.	Tes.	M.l.y.	K.c.	Da.	Böb.	G.k.	A.b.k.	Ö.b.k.	Bey.	Göz.	K.b.	G.b.	sayısı	(%) si
2	50	0.33	9.66	12.66	1.00	-	6.00	48.00	-	-	-	-	-	-	-	1.00	-	78.65	3.93
	100	2.66	44.66	10.33	-	-	3.33	33.66	1.00	-	-	-	-	-	-	0.66	-	96.30	4.81
	150	1.33	11.33	0.66	-	-	3.00	9.33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25.65	1.28
	300	1.66	27.66	-	-	-	2.00	-	-	-	-	-	-	-	-	0.66	-	31.98	1.59
	K(+)	0.66	-	11.00	-	-	7.00	79.33	0.33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98.32
5	50	1.66	2.33	60.33	2.66	0.66	4.66	119.66	2.66	2.00	3.66	1.33	2.66	3.66	-	-	-	207.93	10.39
	100	-	7.66	16.66	-	-	5.33	38.66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	68.31	3.41
	150	0.33	3.33	7.33	-	-	1.33	10.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22.32	1.11
	300	0.33	5.33	-	-	-	1.33	-	-	-	-	-	-	-	-	0.33	-	7.32	0.36
	K(+)	0.33	0.33	43.66	7.00	2.66	11.33	133.66	0.33	2.66	4.66	4.66	2.66	6.66	-	0.66	-	221.26	11.06
7	50	1.00	0.33	11.33	4.66	-	2.66	45.66	1.00	3.66	1.33	2.33	1.66	7.33	-	-	-	82.95	4.14
	100	1.33	4.33	20.33	-	1.00	2.66	47.00	1.33	1.00	-	-	-	0.33	-	-	0.33	79.64	3.98
	150	1.00	3.00	18.33	-	-	2.66	3.00	0.33	-	-	-	-	-	-	0.33	-	28.65	1.43
	300	0.33	2.33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.66	0.13
	K(+)	2.33	-	19.00	3.66	1.33	6.00	50.66	4.66	5.00	6.66	4.66	2.33	12.33	0.33	0.33	-	119.28	5.96
15	50	-	-	4.00	3.66	-	1.00	13.33	-	4.33	3.33	2.33	2.00	6.33	-	-	-	40.31	2.01
	100	-	1.00	5.00	-	0.33	2.00	5.00	0.33	0.33	-	0.33	-	1.00	-	-	-	15.32	0.76
	150	-	-	3.66	-	-	3.66	5.33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12.65	0.63
	300	1.33	4.33	-	-	-	2.00	-	-	-	-	-	-	-	-	0.33	-	7.99	0.39
	K(+)	1.00	-	23.00	2.00	-	-	23.66	0.33	3.00	7.66	4.00	3.33	10.33	1.00	-	-	79.31	3.96
	K(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Mi.: Mide Bağ.: Bağırsak A.c.: Akciğer Ka.: Kalp Tes.: Testisler M.l.y.: Mezenter lenf yumruları K.c.: Karaciğer Da.: Dalak Böb.: Böbrekler
 G.k.: Göğüs kasları A.b.k.: Arkabacak kasları Ö.b.k.: Önbacak kasları Bey.: Beyin Göz.: Gözler K.b.: Karın boşluğu G.b.: Göğüs boşluğu
 K(+): Pozitif kontrol grubu K(-): Negatif kontrol grubu

Kaynaklar

1. Abo-Sheheda, M.N. and Herbert, I.V. (1984/85). *The migration of larval Toxocara canis in mice. II. Postintestinal migration in primary infections.* Vet Parasitol, 17:75-83.
2. Abo-Sheheda, M.N., Al-Zubaidy, B.A. and Herbert, I.V. (1984/85). *The migration of larval Toxocara canis in mice. I. Migration through the intestine in primary infection.* Vet Parasitol, 17:65-73.
3. A/gadir, H., Haroun, E.M. and Gameel, A.A. (1987). *The protective effect of irradiated metacercariae of Fasciola gigantica against homologous challenge in sheep.* J Helminth, 61:137-142.
4. Alabay, M. (1983). *Koyunlarda Trichostrongylus vitrinus enfeksiyonunun gelişmesinde iradyasyonun etkisi ve bu parazite karşı iradiye aşı denemesi.* Ankara Üniv Vet Fak Derg, 30:135-143.
5. Alabay, M., Çerçi, H., Aykol, F. and Özkan, R.F. (1987). *The response of lambs vaccinated with irradiated Trichostrongylus colubriformis larvae to impulsive and sequential challenge with normal larvae.* Doğa Tr Vet Hay Derg, 11:103-107.
6. Alabay, M., Emre, Z., Çerçi, H., Ersen, S. and Mutluer, B. (1992). *Inhibition of viability and infectivity of Cysticercus bovis by irradiation of meat.* T Parazitoloj Derg, 16:68-76.
7. Alicata, J.E. (1951). *Effects of roentgen radiation on Trichinella spiralis.* J Parasitol, 37:491-501.
8. Barriga, O.O. and Myser, W.C. (1987). *Effects of irradiation on the biology of the infective larvae of Toxocara canis in the mouse.* J Parasitol, 73:89-94.
9. Bisseru, B. (1969). *Studies on the liver, lung, brain and blood of experimental animals infected with Toxocara canis.* J Helminth, 43:267-272.
10. Boucher, F., Boulard, Y., Baccam, D. and Leger, N. (1986). *Ultrastructural studies of alterations induced by microwaves in Toxocara canis eggs: Prophylactic interest.* Z Parasitenkunde, 72:755-764.
11. Burgu, A. (1975). *Echinococcus g. granulosus protoscolex'lerin beyaz farelerde (Mus musculus var. albinus) sekonder kist meydana getirme yeteneklerine radyasyonun etkisi.* Ankara Üniv Vet Fak Derg, 22:137-148.
12. Burren, C.H. (1968). *Experimental toxocarosis. I. Some observations on the histopathology of the migration of Toxocara canis larvae in the mouse.* Z Parasitenkunde, 30:152-161.
13. Dhar, D.N. and Sing, K.S. (1970). *Effect of irradiation on the infective stage larvae of the nematode, Oesophagostomum columbianum and their use as a vaccine.* J Helminth, 44:11-26.
14. Dunn, A.M. (1978). "Veterinary Helminthology" 2 nd ed., William Heinemann Medical Books Ltd., London.
15. Ford, M.J., Bickle, Q.D. and Taylor, M.G. (1984). *Immunization of rats against Schistosoma mansoni using irradiated cercariae, lung schistosomula and liver-stage worms.* Parasitol, 89:327-344.
16. Ghafoor, S.Y.A., Smith, H.V., Lee, W.R., Quim, R. and Girdwood, R.W.A. (1984). *Experimental ocular toxocarosis: A mouse model.* Br J Ophth, 68:89-96.
17. Güralp, N. (1981). "Helmintholoji". 2. baskı, Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayın. 368/266, Ankara Üniv Basımevi, Ankara.
18. Hafez, M.D. and Rao, B.V. (1986). *Effect of single vaccination on the longevity of immunity produced by gamma irradiated amphistome metacercaria (Cercariae indicae XXVI).* Indian Vet J, 62:106-108.
19. Kamiya, M., Ooi, H. and Nomura, T. (1987). *The effect of radiation on the viability and migratory ability of second-stage larvae of Toxocara canis in mice.* Vet Parasitol, 24:87-92.
20. Kayes, S.G., Omholt, D.E. and Grieve, R.B. (1985). *Immune responses of CBA/J mice to graded infections with Toxocara canis.* Infect Immun, 48:697-703.
21. Miller, T.A. (1964). *Effect of X-irradiation upon the infective larvae of Ancylostoma caninum and the immunogenic effect in dogs of a single infection with 40 kr-irradiated larvae.* J Parasitol, 50:735-742.
22. Movsesijan, M. and Mladenovic, Z. (1970). *Active immunization of dogs against Echinococcus granulosus.* Vet Glas, 24:189-193, (Ref: Helminth. Abst., 1973, 42, 1039).
23. Oothuman, P., Denham, D.A., Mc Greevy, P.B. and Nelson, G.S. (1978). *Studies with Brugia pahangi. 15. Cobalt 60 irradiation of the worm.* J Helminth, 52:121-126.
24. Oshima, T. (1961). *Standardization of techniques for infecting mice with Toxocara canis and observations on the normal migration routes of the larvae.* J Parasitol, 47: 652-656.
25. Sinha, B.N. (1966). *The migratory behaviour of the larvae of Toxocara canis (Werner, 1782) in the mice.* Indian Vet J, 43: 1101-1105.
26. Sivanathan, S., Duncan, J.L., Urquhart, G.M. and Smith, W.D. (1984). *Some factors influencing the immunization of the sheep with irradiated Haemonchus contortus larvae.* Vet Parasitol, 16:313-323.
27. Soulsby, E.J.L. (1982). "Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals". 7. th ed., Bailliere Tindall, London.
28. Sprent, J.F.A. (1952). *On the migratory behavior of the larvae of various ascariid species in white mice. I. Distribution of larvae in tissues.* J Infect Dis, 90:165-176.
29. Sprent, J.F.A. (1955). *On the invasion of the central nervous system by nematodes. II. Invasion of the nervous system in ascariasis.* Parasitol, 45:41-55.
30. Sprent, J.F.A. (1963). *Visceral larva migrans.* Aust J Sci, 25:344-354.
31. Taylor, M.G., James, E.R., Nelson, G.S., Bickle, Q., Dunne, D.W. and Webb, G. (1976). *Immunization of sheep against Schistosoma matthei using either irradiated cercariae and irradiated schistosomula.* J Helminth, 50:1-9.
32. Tiğin, Y. (1970). *Coenurus cerebralis'teki scolex'lere Cobalt 60 kaynağından verilen radyasyonun etkisi.* Ankara Üniv Vet Fak Derg, 17:242-255.
33. Tiğin, Y. (1974). *Fasciola hepatica yumurtalarında miracidium gelişmesine Cobalt 60 kaynağından verilen radyasyonun etkisi.* Ankara Üniv Vet Fak Derg, 20:454-468.
34. Tomanek, J., Pokorna, J. and Sedlecek, M. (1975). *Immunization of guinea-pigs with X-irradiated infective larvae of Dictyocaulus filaria.* Acta Vet (Brno), 44:217-222.
35. Tromba, F.G. (1978). *Immunization of pigs against experimental Ascaris suum infection by feeding ultraviolet attenuated eggs.* J Parasitol, 64:651-656. (Ref:Helminth. Abst., 1979, 48, 3460).
36. Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M. and Jennings, F.W. (1987). "Veterinary Parasitology". Longman Scientific and Technical, England.
37. Villella, J.B., Gould, S.E. and Gømberg, H.J. (1958). *Effect of Cobalt-60 and X-ray on infectivity of ascaris eggs.* J Parasitol, 44:85-92.
38. Villella, J.B., Gould, S.E. and Gømberg, H.J. (1960). *Effect of Cobalt-60 and X-ray on infectivity of cysticercoids of Hymenolepis diminuta.* J Parasitol, 46:165-169.
39. Wade, S.E. and Georgi, J.R. (1987). *Radiolabeling and autoradiographic tracing of Toxocara canis larvae in male mice.* J Parasitol, 73:116-120.
40. Williams, J.F. and Colli, C.W. (1972). *Influence of ionizing irradiation on infectivity of eggs of E. granulosus in laboratory rodents.* J Parasitol, 58:427-430.