

CİVCİVLERDE DENEYSEL EİMERİA TENELLA ENFEKSİYONUNUN PATOLOJİK BULGULARI ÜZERİNDE IŞIK VE ELEKTRONMİKROSKOBİK İNCELEMELER¹

Ayhan Atasever²

Licht-und elektronenmikroskopische Untersuchungen über Pathologischen Befunden bei
experimentelle Infektionen der Eimeria tenella in Huhnerküken

Zusammenfassung: Für diese experimentellen Untersuchungen standen insgesamt 175 Kücken zur Verfügung, welche spezifische pathogen frei (SPF) waren.

Während der infektion wurde die Prepatenzdauer als 7 age und Patenzdauer als 14 Tage registirert.

Während des Entstehung der ersten Generation von Schizonten und Merozoiten wurden zehr schwache pathologische Veränderungen in Blinddarm. Die echten Lesionen wurden während der Entwicklung aber zweiten Generation von Schizonten und Merozoiten beobachtet. In Blinddarm wurde lymphozytere und heterophile leukozytere Infiltration sowie breite Blutungen und degenerative Veränderungen gefunden, welche sich von propria zu Tunica Muscularis und Seroza verbreiteten. Ausserdem wurde villöse Atrophie an einigen Tiere nachgewiesen. Ähnliche Veränderungen wurden auch im Dickdarm getroffen. In der Heilungsperiode wurden Vermehrung des Bindegewebes in Propria schleimhaut, mitose im Drüsenepithel, zystische Dilatation in manchen Drüsen, Hyperplasie in epithel und Drüsen, eine Normalisierung in Villuse beobachtet. Es wurde Fibrozys, degenierte Oozysten, Riesige zellen in propria schleimhaute des Dickdarmes und Pysion in Villus festgestellt. In Bursa Fabricii wurde pathologische Befunde wie zystische Formen im Lamina epithelialis, Pyknoze der Lymphozyten Wehrmehrgung sowie infiltration von heterophielen leukozyten in interfollikulären Areale gefunden.

Während der elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden partielle nekrose und vesikuläre Degeneration in Zytoplasma der epithelzellen, die parasitere invasion hatten, getroffen. Atrophien und Deformation in Zellorganellen wurden festgestellt, welche paralel mit der Entwicklung von Parasiten gehen.

1. Bu çalışma aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir (1992).
2. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Alle Versuchsergebnisse deuten daraufhin, dass die 2-3 Tage Alte Küchen pathologische und klinische Symptomen mit höherem Mortalität wie 3-8 woche Ältere Spezifische Pathogen Frei (SPF) Kücken zeigen, wenn die Oozysten von E. tenella in genügen der Dozis gegeben wurde.

Özet: Bu deneysel çalışmada 2-3 günlük toplam 175 adet SPF civciv kullanıldı. Enfeksiyonda prepatenz süre 7, patenz süre ise 14 gün olarak tesbit edildi.

Sekumdaki patolojik değişiklikler I. generasyon şizont ve merozoitlerin oluşumu esnasında hafifdi. Asıl lezyonlar II. generasyon şizont ve merozoitlerin gelişmesi sırasında ortaya çıktı. Propriadan tunika muskularise ve serozaya kadar yayılan lenfosit, heterofil ve eozinofil lökosit infiltrasyonları, geniş kanamalar; dejeneratif değişiklikler ve villöz atrofi ile karşılaşıldı. Benzeri değişikliklere ince barsaklardan çok kalın barsaklarda rastlandı.

İyileşme aşamasında sekumda propria mukozada bağ doku artışı bez epitellerinde mitoz, bazı bezlerde kalıcı kistik dilatasyon bezlerde epitellerde hiperplazi ve villuslarda normalleşme gözlemlendi. Kalın barsaklarda propria mukozada fibrozis, dejenere oosistler, dev hücreleri ve villuslarda füzyon görüldü. Bursa fabricius'da da patolojik olarak lamina epitelialiste kistik yapılar, lenfoid folliküllerde lenfositlerde piknoz, dejeneratif değişiklikler ve interfolliküler bağ doku artışı ile heterofil lökosit hücre infiltrasyonları görüldü.

Elektron mikroskopik incelemede sporozoid invazyonuna uğramış epitel hücrelerinin sitoplazmalarında kısmi nekroz ve vesiküler dejenerasyon ile karşılaşıldı. Parazit gelişimine paralel olarak hücre organellerinde atrofi ve deformasyon belirlendi.

Sonuç olarak, E. tenella'nın sporlu oosistlerinin yeterli dozda verilmesi halinde, 2-3 günlük SPF civcivlerde de 3-8 haftalık yaştakilerdeki gibi yüksek mortalite ile seyreden klinik ve patolojik bulgular oluşturulabilmektedir.

Giriş

Halk arasında "Piliçlerin kanlı ishali" olarak da tanımlanan E. tenella'nın oluşturduğu sekal koksidiyozis, özellikle 3-8 haftalık piliçlerde yüksek morbidite ve mortalite ile seyrederek önemli ekonomik kayıplara neden olur (16, 23, 25, 29, 31).

Sekal koksidiyozisin tavuklar arasında farklı patojenite göstermesi konakçayı etkileyen yaş, ırk, immunité, barsak florası, beslenme ve diğer faktörler yanında sayısı ve virulensi ile ilgili olduğu kaydedilmiştir (2, 16, 25, 26).

Enfeksiyonda prepatenz süre 6-7 gün, patenz süre ise 14 gün olarak tesbit edilmiştir (23). Klinik bulgular yem ve su alımının durması ile başlar (15, 23, 31). Enfeksiyonun 4. gününde kanlı gaita 5-6. günlerde yerini tamamen kan damlalarına bırakır ve hayvanlarda anemi şekillenir. Ölümler 5-6. günlerde yoğun olmak üzere 4-8. günlerde ortaya çıkar (7, 15, 19, 23, 31).

Otopside; enfeksiyonun 3. gününde sekumda hafif kalınlaşma konjesyon ve peteşiyal kanamalar ortaya çıkar (15, 25, 29). Kanamalar 4. günde tüm sekumu kaplar (7, 15, 25, 28, 29). Bulgular yoğun olarak 5-6. günlerde tüm sekuma yayılır (19, 23, 25, 28). Sekal deliğe yakın ince barsak bölgeleri ve kolon bölgelerinde de benzer lezyonlar gözlenir (12, 13, 23). Altıncı ve sekizinci günlerde sekum duvarındaki şiddetli nekrotik değişiklikler, gangrenöz tiflitis ve bazen ruptur ile sonuçlanıp adeziv peritonitise neden olduğu bildirilmiştir (15, 25, 29). Ölmeyen hayvanlar 7. günden başlayarak iyileşir ve sekumları normale döner (14, 15, 31).

Enfeksiyonda; organizmaya alınan sporlu oosistlerin, özellikle tripsin, safra ve taşlı midenin yardımıyla eksiste olması sonunda serbest hale gelen sporozoitler villus yüzey epitellerinden, bezlere taşıyıcı hücreler tarafından getirilirler ve bu şekilde bez epitellerine girerler (6, 12, 19, 22, 29, 30). Elekon mikroskopik araştırmalarda bu hücrelerin interepitelial lenfosit olduğu bildirilmiştir (8, 11, 21, 27).

I. generasyon esnasında bezlerde fokal nekrozis ile birlikte propia ve submukozada lenfosit, heterofil lökosit ve pyrinofilik hücrelerin sayısı artarak fokal kanama alanları ile birlikte görülür (4, 15, 25).

Esas patolojik bulgular II. generasyon esnasında oluşur. Propria mukozada geniş kanama alanları ortaya çıkar ve 6. güne kadar devam eder. Dördüncü gün yaygın kanamalar ile villus epitellerinde yıkım dolayısıyla sekum lümeninde eritrosit, dökülmüş epitel ve parazit formlarına rastlanır (15, 16). Villuslar şişkindir. Propriada lenfosit, plasmosit, heterofil lökosit hücre infiltrasyonları, nekroze alanlar ve ödem barsağın derin katlarına doğru yayılım gösterir. Tunika muskularisin kas demetleri arasında da lenfosit infiltrasyonları, eritrositler ile birlikte fokal nekroze alanlar bulunur. Bulgular 5-6. günlerde daha şiddetlidir (3, 7, 19, 29, 31). Kanama oosistlerin oluşması ile azalır. Barsak lümeninde parçalanmış mukoza hücreleri, eritrosit, paraziter form ile fibrinöz kitlelere rastlanır. Bu kitleler mukozaya yer yer yapışmış durumdadır ayrıca bezler kistik hal alır (16, 25).

Enfeksiyonun 7. gününde yüzey bez epitellerinde rejenerasyona ilişkin değişiklikler gözlenir. Villus epitellerinde iyileşme 10. güne kadar tamamlanır. Çoğu bezlerde aynı durum söz konusu olmasına karşın, bazı bezlerde yanginsel devrede gözlenen kistik yapılar kalıcılığını uzun zaman korur (9, 15, 29, 31). Propriada yıkıma ilişkin değişiklikler tam iyileşme ile sonuçlanmaz (25). Submukozada gelişen bağ dokusunun bu bölgelerde fibroze neden olduğu bildirilmiştir (23, 25, 31). Patenz periyod sona erince sekum geniş ölçüde normal haline döner (23, 25, 29).

Bergman (5)'nin elektron mikroskopik yaptığı çalışmada E. tenella sporozoitlerinin epitel hücrelerine invazyon sonucu sitoplazmada kısmi nekroz ve veziküler dejenerasyon ile karşılaşmıştır. Parazitin gelişmesine paralel olarak hücre organellerinde atrofi ve deformasyon saptanmıştır.

Long (14) tarafından ağır doğal enfeksiyonlarda rektum ve B. fabricius epitelerinde de parazitin gelişim dönemlerinin bulunduğu bildirilmiştir. Aynı araştırmacı uzun süre kortikosteroid verilen civcivlerin karaciğerinin safra kanallarında da etkenin şizogoni aşamasını tamamladığını gözlemiştir (17). Sekumu çıkarılan ve E. tenella ile enfekte edilen piliçlerde etkenin daha çok kolon ve rektum bölgelerini tercih ettiği (10, 13), İleumda da az oranda gelişebileceği deneysel olarak gözlenmiştir (12). Ayrıca E. tenellanın barsaklar dışında B. fabricius'da gelişimi ve patolojik bulgularına Anderson ve ark. (1, 2)'nin doğal ve deneysel çalışmalarında değinilmiştir.

Bu çalışma ile E. tenella oosistleri, eksperimental yol ile 2-3 günlük SPF civcivlere verilerek, etkenin endojen gelişimi sırasında sekum ve özellikle detaylı incelenmemiş olan sekum dışındaki patolojik bulgularının ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi ve bu bulguların literatür verileriyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada Manisa Tavukçuluk ve Aşı Üretim Merkezinden sağlanan 1-3 günlük 175 adet İngiltere kökenli Leghorn SPF civciv kullanıldı. İnokulum kaynağı, Almanya Hannover Veterinerlik Yüksek Okulu Kanatlı Hayvan Hastalıkları Bölümünde sağlandı.

Bu inokulum koksidiyoz yönünden negatif olan 15-20 günlük civcivlerde çoğaltıldı ve patojenitesi artırıldı. Elde edilen sporlu oosistler doymuş şekerli su solusyonu ile konsantre edilip oda ısısında sporlanmaya bırakıldı ve Mc master lamında sayıldı (20). Ml'sinde 10.000 adet sporlu oosist içeren inokulum civcivlere ağız ve kloakal yoldan verildi. İnokulum verildikten sonra belli saatlerde öldürülen ve ölü bulunan toplam 141 adet civcive otopsi yapıldı. Bu hayvanlardan alınan doku örnekleri, ışık mikroskopik inceleme için %10'luk tamponlu formalinde tesbit edilerek, parafinde bloklandı 5-6 mikronluk kesitler hazırlandı ve hematoksilen eozin ile boyandı. Ayrıca, bu kesitler Giemsa ve Masson'un trikrom boyaları ile boyanarak incelendi.

Elektron mikroskopik inceleme için; parsak ve B. fabricius'dan alınan 1 mm³ büyüklüğündeki parçalar bilinen teknikler ile Araldit 212'de bloklandı. Bloklardan alınan yarı ince kesitlerden seçilen ince kesitler gritlere alınıp boyandı ve daha sonra elektron mikroskopta incelendi.

Histopatolojik Bulgular

Sekum: İnokulasyondan sonraki 6. saatden 18-24. saate kadar villus ve bez epitellerinde parazitifor vakuoller içinde Giemsa ile boyanan tek tük trofozoitlere rastlandı. Otuzuncu saatde bunlar ayrıca sayıca artarken I. generasyon şizontlarında bu bölgelerde geliştiği saptandı.

Üçüncü günün 60. saatinde trofozoitler azalırken, bezlerde merozoitle gelişmiş I. generasyon şizontlar belirgindi. Patolojik değişiklikler, I. generasyon

serbest merozoitlerin görüldüğü 66-72. saatlerde göze çarptı. Sekum lümenlerinde şizontlara, serbest merozoitlere, dökülmüş, parçalanmış villus epitellerine ve yangı hücrelerine rastlandı. Propria mukozada az sayıda mononükleer hücreler, heterofil lökositler ve tek tük eritrositler görüldü.

Dördüncü günün 84 ve 96. saatleriyle 5. günde genç olgun şizontlar ile merozoitler başlıca gelişim formu idi. Bulgular hafif kanama dışında bir önceki gündeki gibiydi.

Altıncı günün 132. saatinde şizont I'ler yanında II'lere de rastlandı. Şizont II'ler sekum propriasında fibroblast benzeri hücrelerin sitoplazmasındaki parazitofor vakuoller içinde gözlemlendi (Şekil 1A, 1B). Bu dönemde seksüel gelişmeyi gösteren mikro ve makrogamontlar ile az sayıda mikro ve makrogametositler ve tek tük ince bir membranla çevrili oosistlere de rastlandı. En belirgin patolojik değişiklikler bu günlerde dikkati çekti. Sekum lümenlerinde parazit formları ile çok sayıda eritrosit, yangı hücreleri ve dökülmüş epitel hücreleri birlikte görüldü. Bezlerin çoğu parçalanmış ve gözden silinmişti. Propriadan tunika muskularise kadar yoğunlaşan geniş kanama alanları dikkati çekti. Bu bölgeler arasında ödemli nekroze alanlar ile mononükleer hücrelere, yoğun ve eozinofil lökositlere rastlandı (Şekil 1C).

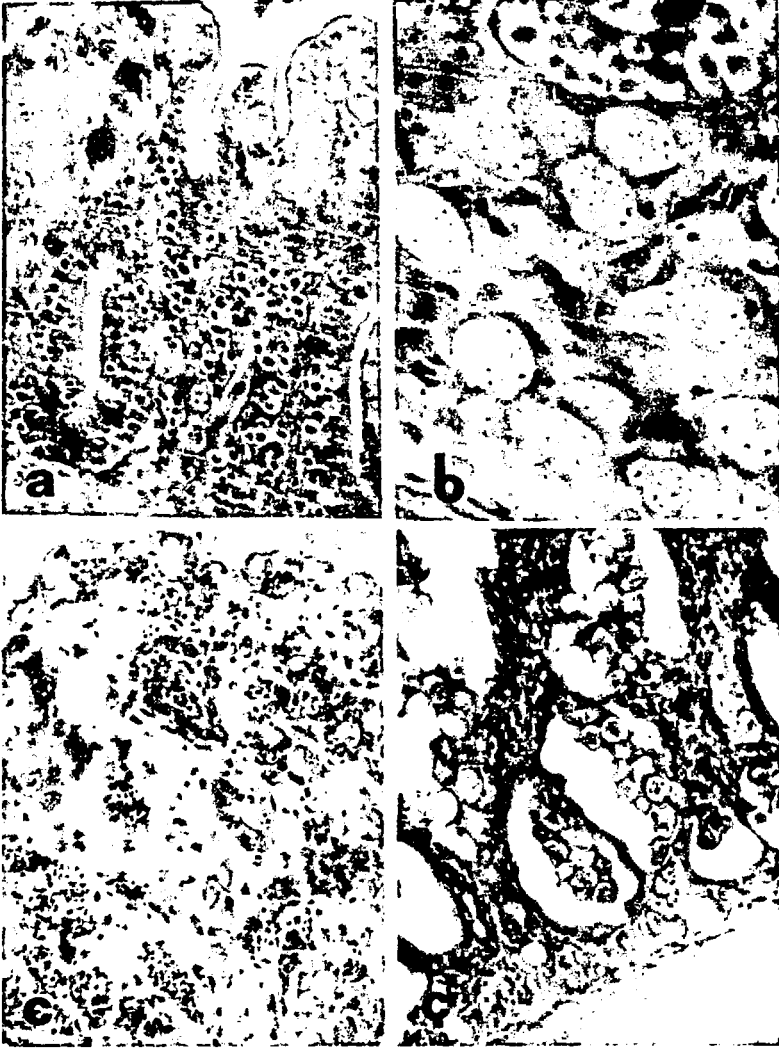
Yedinci günün 156. saatinde patolojik bulgular benzerdi. Bazı bez epitellerinde III. generasyon olgun şizont ve merozoitler ile karşılaşıldı. Oosistlerin çoğuna bez lümenlerinde, serbest veya dökülmüş epitellerin içinde rastlandı (Şekil 1 Ç). Bu günün sonunda kanamanın azaldığı ve propria mukoza ile kas demetleri arasında az sayıda heterofil ve diffuz mononükleer hücre infiltrasyonunun bulunduğu görüldü.

Sekum villuslarının çoğunun 8-9. günün 180-216. saatlerinde atrofik hal aldığı dikkati çekti (Şekil 2A). Propria mukozada mononükleer hücre infiltrasyonları arasında ilk kez bağ doku hücreleri gözlemlendi. Bezler kistik durumda idi. Parazit formlarının çoğunu oosistler oluşturmuştu. İlerleyen saatlerde propriada bağ doku hücreleri gözlemlendi (Şekil 2A).

Onuncu günün 228 ve 240. saatlerinde sekum lümeninde oosistler yoğun, villus ve bez epitellerinde ise azalmıştı. Propria ve submukozada serbest şekilde dejenere oosistler bulunuyordu.

Onbir ve onüçüncü günlerde az sayıda oosistler, makrogamet ve III. generasyon şizontlara sekum ve bez epitellerinde rastlandı. Patolojik bulgular 10. güne benzemekle birlikte bez epitellerinde normale dönüşüm ve hiperplazi ile daha fazla bölgede karşılaşıldı. Bazı bez epitellerinde rejenerasyonla ilgili mitozaya rastlandı. Kadeh hücreleri salgı ile genişlemiş, ovalimsi görünüşte idi.

Ondördüncü gün ve sonraki günlerde propriada kistik yapılar ve dejenere oosistler dışında bulgu yoktu (Şekil 2B). Bu günden sonra benzelerde ve villuslarda normalleşme görüldü.



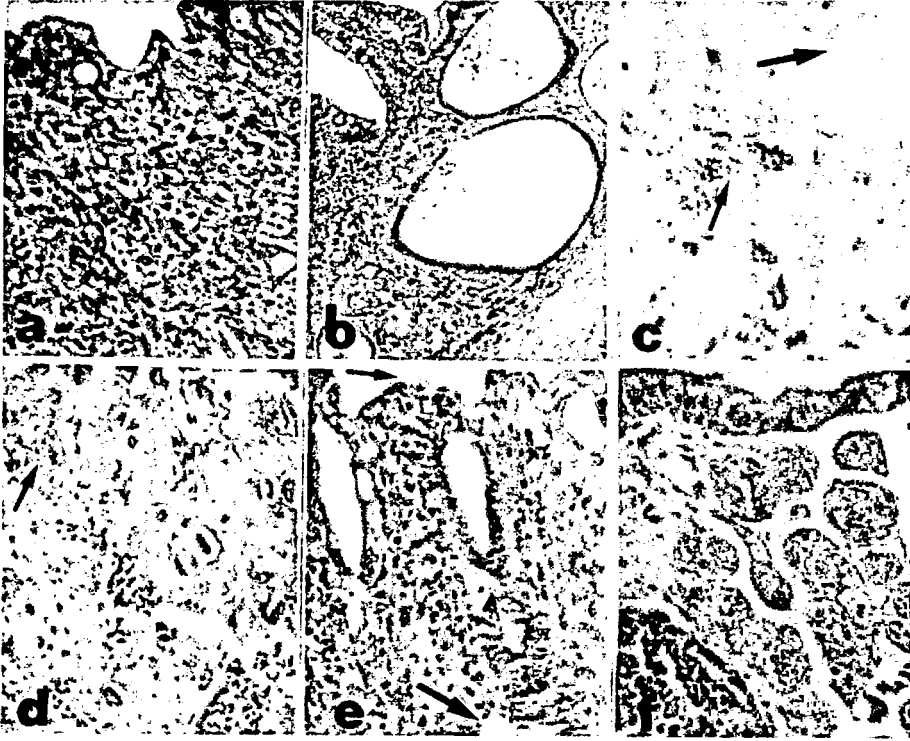
Şekil I. A- Bez epitellerinde gelişmekte olan Şizont I'ler ve propriada olgunlaşmış şizont II'ler.

Sekum, H.E., x225. (Die Entwicklung von Schizonten I'in Drüsen zellen und die reifenden Schizonten II'in Propria der schleimhaut).

B- Propria mukozada fibrosit benzeri hücrelerde II. generasyon şizontlar. Sekum, Masson'un Trikróm boyası, x580. (Die zweiten Generation von Schizonten in fibrozyten ähnlichenzellen der propria schleimhauten).

C- Villuslarda şişkinlik, propriada ödem, kanama, lenfoid hücre infiltrasyonları ile parazitin gelişim formları. H.E., x 225. (Schwellung der Villi intestinalen und Oedema, Blutung, Lymphozytere infiltrationen parazytäre Entwicklungs Phase in Propria Schleimhaut).

Ç- Sekum bez lümenlerinde oosistleri ile bezlerde kistik yapılar. H.E., x 225. (Die Oozyten in zystischen Dilatierende raume der Blinddarms Drüsen).



Şekil 2. A- Sekumun villuslarında atrofi, propria mukozasında tıbzozis ve az sayıda mononükleer hücreler. H.E., x225. (Villöse Atrophic und wenige mononükleare zellen, fibrozys in Propria der Blinddarm).

B- Sekumun propria mukozasında kistik bez yapıları ve hücre infiltrasyonu. H.E., x90. (Zystische Drüsen und infiltrierende zellen in Propria der Blinddarm).

C- İleum propriasında şizont II'ler (→) ile hafif kanama ve fokal hücre infiltrasyonu (→). H.E., x225 (Die Schizonten II (→), geringradige Blutungen und fokale infiltrierende (→) zellen in propria der ileum).

D- Kolonun propria mukozasında kanama ve az sayıda hücre infiltrasyonları ile şizont II'ler (→). H.E., x225. (Blutung, einige zellinfiltrationen und schizonten II'in (→) propria des Dickdarmes).

E- Villuslarda füzyon (→), propriada dejenere oosist (→) ve hücre infiltrasyonları. Kolon, H.E., x225. (Villöse physion (→) und degenierte Oozysten (→), wenige zellen in propriaschleimhaut Dickdarmes).

F- Bursa fabricius'un lamina epitelialisinin altındaki interfolliküler bölgede merozoitleri içeren şizont II'ler ve folliküllerde lenfositlerde piknoz. H.E., x280. (Die Schizonten II mit Merozoiten in interfollikülaeren Areale unter lamina epithelialis von Bursa fabricii und Pyknotische Lymphozyten in lymphoider follikeln).

Ince barsaklar: Şizont l'lere ilk kez 4. günün 84-96. saatinde ileumda rastlandı. İkinci generasyon şizontlarda 96. saatte bağ dokusunu andıran konakçı hücrelerinde ileumun propria mukozasında görülmeye başlandı. Bu formlar 108 ve 120. saatlerde ileumun tüm bez epitel hücrelerinde yerleşmişti. Parazit yoğunluğuna göre villuslar hafif şişkindi. Propriada tek tük eritrositler dışında yangı hücrelerine rastlanmadı. Benzer bulgular 120. saatden itibaren jejunumda da görüldü (Şekil 2C).

Altıncı günün 132 ve 144. saatlerinde ileum ve jejunumdaki bez epitellerinde gamontlar ile tek tük makrogametosit ve III. generasyon şizontlar ile karşılaşıldı. Lümeninde II. generasyon şizont, serbest merozoitler az sayıda eritrosit ve dökülmüş epiteller ile propria mukozada heterofil lökosit ve mononükleer hücrelerde artış dikkati çekti.

Yedinci günün 156 ve 168. saatlerinde parazitler yanında villus ve bez epitel hücrelerinde dökülme, bir kaç bezde kistik dilatasyon, propriada mononükleer hücre infiltrasyonlarına rastlandı. Ayrıca bez epitellerinde bir kaç genç oosist ile bez epitellerinin çoğu lümenine dökülmüştü.

Sekiz ve dokuzuncu günün 180 ve 216. saatlerinde jejunum ve ileum lümenlerinde yoğun oosistler ile karşılaşıldı. Çoğu kez epitelleri oosistler dolayısıyla bal peteği manzarası almıştı. Villuslarda atrofi, propriada az sayıda mononükleer hücre infiltrasyonu bir kaç bezde kistik dilatasyon ve bez epitellerinde dökülme kaydedildi. İlerleyen saatlerde sekumdaki gibi olmasada bağ dokusu hücreleri göze çarpar hale geldi. Onuncu günde villuslar hafif şişkin olamakla birlikte normal yapısını almaya başladı.

Kalın barsaklar: Az sayıdaki I. generasyon şizontlara 60. saatden 120. saate kadar kolon bez epitel hücrelerinde rastlandı. Çevresinde lenfoid hücre infiltrasyonundan başka bulgu yoktu.

Altıncı günün 132 ve 144. saatlerinde II. generasyon şizontlar, tüm kolonda kısmende rektumda sayıca aynı düzeye erişti. Kolon ve rektum lümenlerinde serbest merozoit, II. generasyon şizontlar yanında, tunika muskularise kadar yayılan lenfoid, heterofil lökosit hücre infiltrasyonları ile yoğun kanamalar dikkati çekti (Şekil 2 D). Yedinci günün 156-168. saatlerinde seksüel formlarda görüldü. Patolojik bulgular aynı idi.

Sekizinci günün 180-192. saatlerinde makrogamet, mikrogamet ve oosistlere tüm kolnlarda bez epitellerinde rastlandı. Kolon ve rektum lümenlerinde de fazla miktarda oosist, şizont ve serbest merozoitler yanında, eritrsitler dökülmüş hücreler ile birlikte fibrin kitleleri göze çarptı. Villuslar kısmen atrofik, kısmende epitelleri dökülmüştü. Villus yüzeyleri fibrin kitleleri ile örtülmüştü. Propria mukozada lenfoid ve heterofil hücreler arasında fibroblast hücrelerinde de artış görüldü.



Şekil 3: Barsak propria mukozasında bağ dokusu hüresine benzeyen hücrelerde II. generasyon merozoitleri içeren Şizont. Sekum, x2700. (Die Zweiten Generatione Schizonten mit merozoiten in Fibrozytähnlicherzellen in Darmpropria schleimhaut).

Dokuzuncu günde 204-216. saatlerde rektum bez epitellerinde oosistler sayıca çoğaldı. Propria da lenfoid hücreler yoğunlaştı. Bir kısım bezler kistik hal almış, bazılarının ise sadece bazal membranı kalmıştı. Propriada dejenere oosistler çevresinde dev hücreleri dikkati çekti. Bağ doku hücreleri ve histiyositler sayıca artmıştı.

Onuncu günün 228-240. saatlerinde kolon ve rektumda benzer bulgular görüldü. Onikinci günün 264. saatinden 14. günün 336. saatine kadar bulgular iyileşme yönünde gelişti. Propriada az sayıda dejenere gamont ve oosist formları dışında değişiklik görülmedi. Bir kısım villuslarda belirgin füzyona rastlandı (Şekil 2E). Bezler hafif kistik yapıda olup bazısının epitel hücre nükleuslarında mitotik figürler görüldü. Daha sonraki günlerde aynı bölgelerde bağ doku ve azalan sayıda lenfoid hücreler ile bezlerde kistik yapılar ön planda idi.

Bursa fabricius: Enfeksiyonun 120-144. saatlerinde lamina epitelialis altındaki interfolliküler bölgeye kadar uzanan ve bağ doku benzeri hücrelerde II. generasyon merozoitleri içeren şizontlar ile lamina epitelialisin bazı bölgelerinde gözlenen tek tük makrogametlerden oluşmuştu (Şekil 2F). Aynı bölgelerde kistik yapılarda gözlendi.



Şekil 4: Bez epitel hücrelerinde sitoplazma bölünmesini tamamlamış III. generasyon şizont ile gamont formu. Sekum, x7300. (Die Entstehung dritten Generatione Schizonten mit Gamonten formen in zytoplasma der Drüsen epithelzellen).



Şekil 5: Bez epitelinde mikrogamet, makrogamet, III. generasyon merozoitler ile hücrelerde yapısal değişiklikler. Sekum, x4000. (Mikro-makrogamoten und dritten Generation von Merozoiten in Veränderten epithelialzellen Der Drüsen).



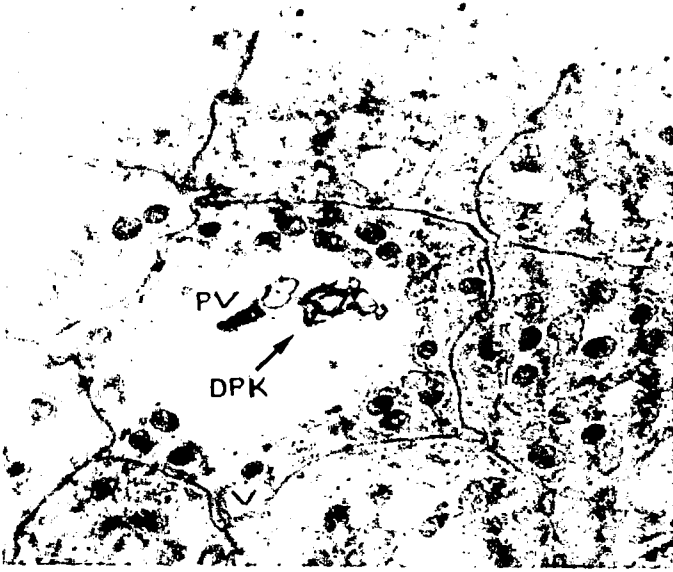
Şekil 6: Membran oluşturan cisimcik tip I ve tip II'si bulunan olgun makrogamet ile yalnız Amilopektin granülü içeren dejenere makrogamet. Bursa fabricius, x3900. (Eine Körperchen I und Körperchen II enthaltende, gesunde Makrogameten (rechts) und die nur Amylopektin granüle enthaltende, degenierte Makrogamet (oben).

Yedinci ve onuncu günlerde az sayıda gamet ve oosistler ile aynı bölgelerde karşılaşıldı. Kistik yapılar yanında lenfoid folliküllerde piknotik lenfositler ile interfolliküler bölgede az sayıda heterofil lökosit odakları ve lamina epiteliyaliste III. generasyon merozoitleri içeren tek tük şizontlara rastlandı. Epitel katındaki kistik yapılar içindeki dejenere oosistler 13. güne kadarki patolojik bulguyu oluşturdu. Sonraki günlerde kalıcı kistik yapılar dikkati çekti.

Elektron Mikroskopik Bulgular

Barsak lümeninde ve villus epitel hücreleri arasında tek tük sporozoitler bulundu. Villusların lamina epiteliyalisinde interepitelial lenfositler görülmesine karşın, bu hücrelerde sporozoit yoktu. Birinci generasyonun genç şizontlarına önce barsak bezleri sonrada B. fabricius'un lamina epiteliyalisinde rastlandı. Bu konakçı hücreleri şişkin çekirdekleri kenarda idi. Sitoplazma organelleri parazitofor vakuol ile hücre membranı arasında kalmış ve deforme olmuştu. Bir kısım hücrelerde ise endoplazmik retikulum kalıntıları ve vakuolleşmiş mitokondrialar dikkati çekti.

Barsak propria mukozasında II. generasyon şizont ve merozoitlerin bulunduğu hücreler büyük, uzunca veya hafif ovalimsi idi. Sitoplazmasında hücre organelleri seçilemiyordu. Konakçı hücre çekirdeği de bir kenara kaymış, bağ dokusu çekirdeğine benziyordu (Şekil 3). Üçüncü generasyon şizontlara barsak ve B.



Şekil 7: Lamina epithelialis hücresinde dejenere parazit kalıntısı bulunan parazitofor vakuol. Hücre sitoplazma ve mikrovillilerinde yapısal değişiklikler. Bursa fabricius, 9400. (Degenierte Parazyt in zystische Parazytophor vakuolen der Epithelzellen in Bursa fabricii. Morphologische Veränderungen in zytoplasma und deren Mikrovilli).

fabricius'da epitel hücrelerinde rastlandı. Gamet oluşumlarında görüldü (Şekil 4). Mikrogamontların nükleusları tek ve sitoplazmalarında amilopektin granülleri vardı (Şekil 5). Bursa fabricius epitel hücrelerinde gelişen makrogametlerin bir kısmı dejenere durumda idi. Normal makrogametlerin periferinde elektron yoğun tip I ve elektron açık tip II cisimcikleri ve amilopektin granülleri görülürken, böyle makrogametlerin tip I ve tip II cisimcikleri dejenere durumda idi (Şekil 6). Bursa fabricius'daki epitellerde ışık mikroskopda görülen kistik yapıların dejenere parazit kalıntısı içeren parazitofor vakuol olduğu saptandı (Şekil 7).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, E. Tenella'nın sporlu oosistleri 2-3 günlük civcivlere ağız ve kloakal yol ile inoküle edilerek; endojen gelişimi sırasında sekum, ince ve kalın barsaklar ile B. fabricius'da oluşan patolojik değişiklikler incelendi.

Inokulasyondan sonra karşılaşılan bulgular, hastalığın 3-8 haftalık piliçlerde kanlı ishal, anemi ve yüksek mortalite ile seyreden akut formuyla benzerlik göstermiştir (1, 4, 26).

Etkenin doku spesifikliğı kabul edilmekle birlikte (15, 16), uygun şartlarda diğerk barsak bölümleri (10, 12, 13) ve kısmende B. fabricius'da gelişip değışik derecede bulgulara yol açtığı bildirilmiştir (1, 2, 14).

Araştırmalardan çıkan sonuca barsak kanalında oosistleri terk eden sporozoitlerin villus yüzey epitelleri arasındaki interepitelial lenfositler (IEL) aracılığı ile propria mukozada üzerinden bez epitel hücrelerine geçerek I. generasyon şizogoniyi başlattığı kaydedilmiştir (8, 11, 21, 27). Elektron mikroskopik incelemede villus yüzey epitelleri arasında tek tük IEL görülmesine karşın, bu hücreler ile sporozoitlerin taşındığı tesbit edilemedi. Sporozoit ve IEL'lerin azlığı nedeniyle; sporozoitlerin her zaman taşıyıcı hücreler ile değil, barsak villus epitel hücreleri arasından geçerek propria mukozada üzerinden bezlere geleceğı görüşü (22) ile birleşilmiştir.

Sekumda esas patolojik değışiklikler II. generasyon şizont ve merozoitlerin oluştuğı döneme rastladı. Propria mukozadan tunika muskularis ve serozaya kadar yayılan geniş kanama alanları, lenfoid ve heterofil lökosit hücre infiltrasyonları, propriada ödem, dokuda dejeneratif değışiklikler ve villöz atrofi ve karakterize bulgular, literatür verileri (3, 7, 15, 19, 20, 25, 31) ile uygunluk sağlayarak makroskopik bulguların temelini oluşturmuştur. Hayatta kalan hayvanlarda propria mukozada bağ doku hücrelerinin artması ve bezlerde kalıcı kistik dilatasyon, bez epitellerinde hiperplazi, mitoz ve villuslarda normalleşme gibi iyileşmeye yönelik bulgulara yine araştırmacıların kaydettiğı (9, 15, 16, 25, 29, 31) bulgular ile paralellik göstermiştir.

II. generasyon şizont ve merozoitlerin gelişmesiyle ince barsaklarda hafif derecede fokal kanama ve az sayıda hücre infiltrasyonu gözlenirken, kolon ve rektumda sekuma benzeyen bulgular ile karşılaşıldı. Ayrıca iyileşme dönemindeki hayvanlarda diğerk araştırmalarda yer almayan kolon villuslarında füzyon yanında kolon propriasında fibrozis ve kalıcı kistik bez yapıları, dejenere oosist ve dev hücreleri gibi sekuma özgü değışiklikler gözlemlendi (14, 15, 23, 25, 31). Kolonların sekumdan sonra etkenin gelişip patolojik değışikliklerin oluşturacağı ikinci bir yer olduğu kanısına varıldı. Sekum ve kolonlarda rastlanan çok sayıda, büyük kistik bez yapıları ince barsaklarda seyrek ve daha küçüktü. Bu oluşumlar çerçevesinde hücre infiltrasyonları da azdı. Bazı araştırmacılar kistik bez yapılarının gelişimini, önceden oluşan hücre infiltrasyonu yoğunluğuna bağlamışlardır (14, 16, 25). İncelememiz sırasında ince barsaklarda yeterli hücre infiltrasyonunun olmaması da bu görüşü güçlendirmiştir.

Elektron mikroskopik ve H.E. ile boyanan kesitlerin incelenmesi propria mukozada bulunan II. generasyon şizontların bağ dokusu hücreleri içinde geliştiğı izlenimini verdi. Bağ dokusu boyamalarında bu hücrelerin bağ dokusu gibi boyanmadığı görülerek, bunların bazı araştırmacıların bildirdiğı gibi bezlerin ba-

zal membranının yırtılması ile propriaya geçmiş epitel hücreleri olduğu görünüşünde (24) birleşildi.

Eimeria tenella'nın *B. fabricius*'da geliştiğine ilgili bulgular bir kaç doğal olgu ile sınırlı kalmıştır. Bu araştırmalarda etkenin gelişim formları ile lamina epitelialiste kistik yapılar, hiperplazi, lenfoid folliküllerde dejeneratif değişiklikler ile interfolliküler bağ doku artışı ve heterofil lökosit infiltrasyonu ile sınırlı patolojik bulgulardan söz edilmiştir (1, 2). Çalışma süresince 24 hayvanda etkenin endojen gelişim formlarının barsak bölümlerinden sonra *B. fabricius*'da görülmesi sporozoitlerin barsakta eksistasyonundan sonra bu organa geldiğini düşündürdü. Bu durum kloakal yolun bulaşmada önemli olmadığını açıklamıştır. Ayrıca bu organda gelişim formları görülmesine karşın çoğunun dejenere durumda olması bu organın etkenin gelişmesi için önemli olmadığını düşündürmüştür.

Sonuç olarak *E. tenella* oosistlerin yeterli dozlarının alınması halinde 2-3 günlük SPF civcivlerde de 3-8 haftalık hayvanlarda olduğu gibi yüksek mortalite ile seyreden klinik ve patolojik bulgulara neden olduğu açıklanmıştır.

Etkenin doku spesifikliğı kabul edilmekle birlikte uygun şartlarda diğer barsak bölümleri ve kısmende *B. fabricius*'da gelişip değişik derecede bulgulara yol açacağı görülmüştür. Özellikle kolonlarda sekuma benzer bulgular görülerek bu barsak bölümünün hastalık için ikinci derecede öneme sahip olduğu saptanmıştır.

Kaynaklar

1. Anderson, W.I. Giambone, J.J., Fletcher, O.J. (1977). *Demonstration of Eimeria tenella in bursa fabricius of chickens*. Avian Dis., 20:752-755.
2. Anderson, W.I., Reid, M.W., Lukert, P.D., Fletch, O.J. (1977). *Influence of infectious bursal disease on the development of immunity to Eimeria tenella*. Avian Dis, 21:637-641.
3. Baba, E., Yaona, M., Fukata, T., Arakawa, A. (1985). *Infection by Salmonella typhimurium, S. Agona, S. enteritidis or S. infantis of chicks with caecal coccidiosis*. British Poul. Sci., 26:505-515.
4. Başkaya, H., Mimioglu, M.M., Pamukçu, A.M. (1952). *Ankara'da civciv ve piliçlerde görülen coccidiosis olayları üzerinde araştırmalar*. Türk Vet. Hek. Dern. Derg., 22: 294-317.
5. Bergmann, V. (1970). *Elektronenmikroskopische untersuchungen zur Pathogenese der Blinddarmkokzidiose der Hühnerküken*. Arch. Exp. Veterinarmed., 24:1169-1184.
6. Challey, J.R., Burns, W.M. C. (1959). *The invasion of the cecal mucosa by Eimeria tenella sporozoites and their transport by macrophages*. J. Protozool., 6:238-241.
7. Clark, E.T., Smith, C.K., Dardaş, R.B. (1962). *Pathological and immunological changes in gnotobiotic chickens due to Eimeria tenella*. Poul. Sci., 41:1635-1636.

8. Ernst, T.D., Befus, A.D., Beinnenstock, J. (1985). *Leukocytes in the intestinal epithelium: An unusual immunological compartment*. Immunol. Today, 6:50-55.
9. Greven, U. (1953). *Zur pathologie der Geflügelcoccidiose*. Arch. Protistenk., 98:342-414.
10. Haberkorn, A. (1971). *The problem of host specificity and variability in the pathogenetic behavior of coccidia*. Vet. Med. Rev., 2-3:342-414.
11. Lawn, A.M., Rose, M.E. (1982). *Mucosal transport of Eimeria tenella in the cecum of chicken*. J. Parasitol., 68:1117-1123.
12. Leathem, W.D. (1969). *Tissue and organ specificity of Eimeria tenella (Railliet and Lucet, 1891) Fantham, 1909 in cecectomized chickens*. J. Protozool., 16:223-226.
13. Leathem, W.D. (1970). *Susceptibility of the small intestine of the chicken to invasion by Eimeria tenella sporozoites*. J. Parasitol., 13:1251-1252.
14. Levine, N.D. (1972). *Intruduction, history and taxonomy*. In: Hammond, D.M., Long, P.L. (Eds): *The Coccidia: Eimeria, isospora, Toxoplasma and Related Genera*. University Park Press, Baltimore, Chap. 1, pp. 1-22.
15. Levine, N.D. (1982). *Taxonomy and life cycles of coccidia*. In: Long, P.L. (Ed): *The Biology of The Coccidia*. University Park Press Baltimore, Chap. 1, pp. 1-35.
16. Levine, N.D. (1985). *Apicomplexa: The coccidia proper*. Veterinary Protozoology, Iowa State University Press, Ames, Iowa, Chap. 7, pp. 130-232.
17. Long, P.L. (1970). *Development (schizogony) of Eimeria tenella in the liver of chickens treated with corticosteroid*. Nature, 2225: 290-291.
18. Long, P.L., Millard, B.J., Joyner, L.P., Norton, C.C. (1976). *A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis*. Folia Vet. Lat., 6: 201-217.
19. Maes, L., Coussement, W., Vanparijs, O., Marsboom, R. (1988). *In vivo action of the anticoccidial diclazuril (Clinacox) on the developmental stages of Eimeria tenella: a histological study*. J. Parasitol., 74:931-938.
20. Mehlhorn, H., Pooch, H., Raether, W. (1983). *The action of polyether ionophorus antibiotics (Monensin, Salinomycin, Lasanocid) on developmental stages of Eimeria tenella (Coccidia, Sporozoa) in vivo and in vitro: Study by light and elektron microscopy*. Z. Parasitenk., 69:457-471.
21. Otto, H.P. (1973) *The interepithelial lymphocytes of the intestinal enteropathy*. Current Topics. Pathol., 57:81-121.
22. Pattullo, W.H. (1959). *Invasion of the cecal mucosa of chicken by sporozoites of Eimeria tenella*. J. Parasitol., 45:253-258.
23. Pellerdy, L.P. (1974). *Coccidia and Coccidiosis*. Verlag Paul Parey Berlin and Hamburg, pp. 246-282.
24. Regal, D.S. (1976). *Licht-und elektronenoptische Untersuchungen an Entwicklungsstadien von Eimeria necatrix*. Zbl. Vet. Med B, 23:744-763.

25. **Reid, W.M., Long, P.L., McDougald, L.R.** (1988). *Coccidiosis*. In: Hofstad, M.S., Barnes, H.J., Calnek, B.W., Reid, W.M., Yoder, H.W. (Eds). *Diseases of poultry*. Iowa States University Press, Ames, Iowa, pp. 692-717.
26. **Rose, M.E.** (1967). *The influence of age of host on infection with Eimeria tenella*. *J. Parasitol.*, 53:924-929.
27. **Rose, M.E., Lawn, A.M., Millard, B.J.** (1984). *The effect of immunity on the early events in the life-cycle of Eimeria tenella in the caecal mucosa of the chicken*. *Parasitology.*, 88:199-210.
28. **Ryley, J.F.** (1980). *Recent developments in coccidian biology: Where do we go from here*. *Parasitology.*, 80:189-209.
29. **Scholtyssek, E.** (1953). *Beitrag zur Kenntnis des Entwicklungsganges des Hühnercoccids Eimeria tenella*. *Arch. Protist.* 98:415-465.
30. **Scholtyssek, E., Strout, G., Haberkorn, A.** (1969). *Schizonten und Merozoiten von Eimeria tenella in Macrophagen*. *Z. Parasitenk.*, 32:284-296.
31. **Soultby, E.J.L.** (1986). *Helminths, Arthropods and of Domesticated Animals*. Great Britain William Cloves Limited, Beccles and London., pp. 630-645.