

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TAVŞANLARDA FARKLI *EIMERIA STIEDAI* SUŞLARI
İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL KARACİĞER
KOKSİDİYOZUNDA PATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan
Gökhan SEYFİ**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Ayhan ATASEVER**

**Veteriner Patoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon

**Ocak 2008
KAYSERİ**

Prof.Dr.Ayhan ATASEVER danışmanlığında **Gökhan SEYFİ** tarafından hazırlanan “**Tavşanlarda Farklı *Eimeria Stiedai* Suşları İle Oluşturulan Deneysel Karaciğer Koksidiyozunda Patolojik Ve Biyokimyasal Bulguların Karşılaştırılması**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Patoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

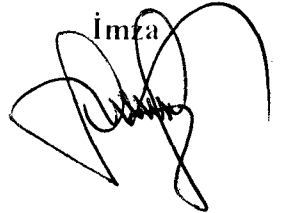
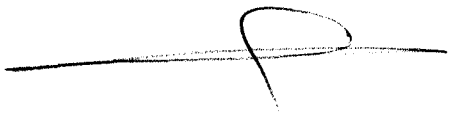
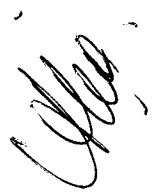
15/02/2008

JÜRİ

Başkan : Prof.Dr.Ayhan ATASEVER (Danışman)

Üye : Doç.Dr.Süleyman YAZAR

Üye : Yrd.Doç.Dr.Anıl İÇA

İmza




ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 29.02.08... tarih ve 401... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

10.03.2008


Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞCIOĞLU

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof.Dr.Ayhan ATASEVER'e, Biyokimyasal analizleri yapan Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr.Öznur ATALAY'a, etken sayımı ve inokulasyonunda yardımcı olan Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr.Anıl İÇA'ya, tavşanların temini ve kan alımlarında yardımcı olan Suni Tohumlama Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr.Orkun DEMİRAL'a, İstatistiksel verilerin değerlendirmesini yapan Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr.Gökhan ERASLAN ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr.Yücel ÇAM'a, hayvanların bakımında yardımcı olan Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğrencisi Serkan GENÇTÜRK'e, tezimin mali desteğini sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığına, Standart *Eimeria stiedai* suşunu sağlayan Dr.Y.Omata (Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Inada-Cho, Obihiro-City Hokkaido, Japan), Sahadan *Eimeria stiedai* suşunu sağlayan İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr.Yücel ÇAM'a ve çalışmam sırasında büyük desteğini gördüğüm sevgili eşime teşekkürü bir borç bilirim.

**TAVŞANLARDA FARKLI *EIMERIA STIEDAI* SUŞLARI İLE OLUŞTURULAN
DENEYSSEL KARACİĞER KOKSİDİYOZUNDA PATOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI**

ÖZET

Bu çalışma, tavşanlarda *Eimeria stiedai*'nin saha ve standart suşu ile oluşturulan karaciğer koksidiyozis'inde klinik, biyokimyasal ve patolojik bulguları karşılaştırmalı olarak değerlendirmek amacıyla yapıldı.

Çalışmada, ağırlıkları 1-1.5 kg arasında değişen, 6-8 haftalık toplam 36 adet sağlıklı yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Hayvanlar her bir grupta 12 hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Birinci grup sağlıklı kontrol olarak tutuldu. Bir ml'sinde *E. stiedai*'nin 50.000 sporlu oosistini içeren inokulumlardan saha suşundan II. grup, standart suşdan III. gruptaki tavşanların her birine 1 ml ağız yoluyla sonda ile direkt mideye verildi. Çalışmanın başlangıcında, etken inokulasyonunun 20 ve deneme sonu olan 30. günde kan numuneleri biyokimyasal analizleri için hayvanlardan toplandı.

Çalışma boyunca I. Kontrol grubundaki tavşanlarda herhangi bir klinik bulguya rastlanmadı. Beden ısıları normal olup yem yeme ve su içmeleri normaldi. *Eimeria stiedai* saha suşu inokule edilen II. ve *Eimeria stiedai* standart suşu inokule edilen III. gruplardaki tavşanlarda inokulasyondan sonraki 20. günden itibaren iştahta azalma, hafif durgunluk, mukoz membranlarında hafif sarılık ve karında genişleme belirlendi.

Nekropsi bulguları, *Eimeria stiedai* saha suşu inokule edilen enfekte II. gruptaki hayvanların karaciğerleri büyümüş, safra kanalları genişlemiş, karaciğerin serozası altında sarımsı beyaz renkte, değişen büyüklük ve şekillerde hafif dışarı taşkınlik gösteren nodüller gözlemlendi. Bu nodüllerin kesit yüzeyinden sarımsıtrak krem renkte akışkan bir sıvının aktığı belirlendi. *Eimeria stiedai* standart suşu inokule edilen enfekte III grupta II gruplardakinden daha şiddetli olarak karaciğer lezyonları belirlendi.

Histopatolojik bulgular; *Eimeria stiedai* saha suşu inokule edilen enfekte II. grupta safra kanalları genişlemiş, epitelleri ile birlikte lumene doğru parmakvari uzantılar oluşturacak şekilde hiperplazik olmuştur. Safra kanalı epitel hücrelerinde *E. stiedai* etkenine ilişkin değişik gelişim sıklığı olanlar (makrogametositler ve oositler) dikkati çekti. Bu kanalların periferinde fibröz doku ile lenfoid hücre infiltrasyonu görüldü. Bu dokuya yakın hepatositlerde hidropik dejenerasyon görüldü. Etkenden uzak parankim doku içerisinde fokal nekroz odakları, fibröz doku ve içerisinde lenfoid hücrelerin bulunduğu alanlar dikkati çekti. Etkenin gözlenmediği portal alanlarda fibroz dokuda artış ve lenfoid hücre infiltrasyonları görüldü. Bazı safra kanalları epitelleri tamamen dökülmüş, lumen tamamen dejenere oositler ile dolu idi. Bu etkenle dolu safra kanalları epitelleri bazı alanlarda birkaç safra kanalının birleşmesiyle geniş odaklar tarzında yerleşim göstermekteydi. *Eimeria stiedai* standart suşu inokule edilen enfekte III. grupta histolojik bulgular benzer olup çok daha şiddetli idi.

Biyokimyasal bulgular, çalışma öncesi tüm gruplara ait biyokimyasal parametrelerin normal sınırlar arasında olduğu ve gruplar arasında istatistikî önem olmadığı belirlenmiştir. Buna karşın, etken verililişinin 20. ve 30. günlerinde; serum ALP enzim aktivitesi, total protein ve albumin değerleri açısından gruplar arasında istatistikî açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Etken verililişinin 30. gününde sağlıklı kontrol grubu (Grup I) değerlerine göre saha suşu verilen grupta serum ALT ve AST enzim aktivitelerinde önemli olmayan hafif bir artış belirlenmesine rağmen etken verililişinin hem 20. hem de 30. günlerinde; serum GGT, ALT ve AST enzim aktivitelerinde Grup I ile saha suşu grubundaki (Grup II) tavşanlar arasında istatistikî açıdan önemli bir artış bulunmamıştır. Buna karşın, etken inokulasyonunun 20. ve 30 günlerinde, sağlıklı kontrol grubundaki tavşanlara ait serum GGT, ALT ve AST enzim aktivitelerine göre standart saha suşu verilen gruptaki tavşanların enzim aktivitelerinde önemli bir artış ($p<0.05$) belirlenmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada tavşanlarda *E. stiedai*'nin saha ve standart suşu ile oluşturulan karaciğer koksidiyozis'inde bazı klinik, biyokimyasal ve patolojik değişikliklerin oluşan enfeksiyonun şiddeti ile farklılık gösterebileceği belirlenmiştir. Bu deneysel enfeksiyon saha ve standart suşun birlikte kullanıldığı ve bazı klinik, biyokimyasal ve patolojik değişikliklerin ortaya konulduğu ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: *Eimeria stiedai* , tavşan, patoloji, biyokimyasal parametre

**COMPARISON OF PATHOLOGICAL AND BIOCEMICAL FINDINGS IN
EXPERIMENTALLY INDUCED THE LIVER COCCIDIOSIS BY DIFFERENT
BY TYPES OF *EIMERIA STIEDAI* STRAINS IN THE RABBITS**

ABSTRACT

The aim of this study was to compare clinical, biochemical and pathological findings of the liver coccidiosis induced by field and standard strain of the *Eimeria stiedai* in the rabbits.

Thirty six healthy New Zealand rabbits, weighed between 1 and 1.5 kg and aged between 6-8 weeks were used. The rabbits were allocated into three groups, each included 12 animals. Group I was held as healthy control group. One ml. inoculum of field strain and standard strain which contain 50,000 sporulated *E. stiedai* oocyst per ml were administered orally by a catheter to each rabbit in the Group II and Group III respectively. Blood samples were collected at the onset of the study, at the day 20 and 30 during the study for biochemical analyses. No clinical findings were observed for the rabbits in the Group I. They had normal body temperature and a good arousal for water and feed consumption. Following at the day 20 after the inoculation, the rabbits in the Group II and III had a significant loss for appetite, mild inactivate and icterus in their mucous membranes, and a significant abdominal distension.

Necropsy Findings; Rabbits in the Group II had enlarged liver, dilated bile ducts and various size of nodules growing outward under their liver serosa. From the cross-section of nodules, there was yellowish-cream colour fluid content. Liver lesions were more severe for rabbits in the Group III than those of the in the Group II.

Histopathological Findings; Rabbits in the Group-II had enlarged bile ducts with hyperplastic appearance, which caused by a finger like extensions with epithelia cell into the lumen.

Various developing forms of *E. stiedai* were observed in the bile ducts epithelia. Fibrous tissue and lymphoid cell infiltration were detected at the periphery of these canals. Hydropic degeneration was observed in the hepatocytes near to bile duct. Focal necrosis area, fibrous tissue formation and regions containing lymphoid cells infiltration were noted in the parenchyma tissue area away from the agents. Fibrous tissue accumulation and lymphoid cell infiltration were detected in the portal regions on where the agents was not observed. Some of the bile duct epithelia desquamated and

their lumen filled with degenerated oocytes. Bile duct epithelia filled with agents changed to a wide region in somewhere by joining a few bile ducts.

Histological findings observed in the Group III were similar to those of the Group II but more severe.

Biochemical findings; Biochemical parameters were in normal range for the all groups and there was no statistical difference between the groups. Moreover, at the day 20 and 30 after parasite inoculation there were no statistical difference for the serum ALP enzyme activities, total protein and albumin values between the groups. At the day 30 after the parasite inoculation, there was not increase in the serum ALT and AST enzyme activities, which was not significant for the rabbits in the Group II compared to Group I. Furthermore, no statistical differences were determined between the Group I and II at the day 20 and 30 after the inoculation for the serum GGT, ALT and AST enzyme activities. However, at the day 20 and 30 after the inoculation a significant increase ($p<0.05$) was found for the rabbits in the Group III compared to Group I for serum GGT, ALT and AST enzyme activities.

In conclusion, some clinical, biochemical and pathological changing may occur in the liver coccidiosis induced by a field and standard strain of *E. stiedai* depending on the severity of the infection. The field and standard strain of *E. stiedai* was firstly used together in this study. This study indicated that biochemical and pathological parameters changed relating to infection.

Key words: *E. stiedai*, rabbit, pathology, biochemical parameter.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	VII
RESİM LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. HASTALIĞIN TANIMI VE ETKENİN KLASİFİKASYONU	3
2.2. TAVŞAN KOKSİDİYOZU VE ETKEN	3
2.3. KONAKÇI, BULAŞMA ŞEKLİ VE ETKENİN HAYAT SİKLUSU.....	4
2.4. ENFEKSİYONUN SÜRESİ, GÖRÜLME YAŞI, KLİNİK VE BİYOKİMYASAL BULGULAR	4
2.4.1. Enfeksiyonun Süresi	4
2.4.2. Enfeksiyonun Görülme Yaşı ve Oluşumunda Etkili Olan Faktörler	4
2.4.3. Klinik Bulgular	4
2.4.4. Biyokimyasal Bulgular	5
2.5. PATOLOJİK BULGULAR	5
2.5.1. Makroskopik Bulgular	5
2.5.2. Mikroskopik Bulgular	5
2.5.3. Hastalığın Önemi	6
2.5.4. Hastalığın Tanısı	6

	<u>Sayfa No</u>
3. GEREÇ VE YÖNTEM	7
3.1. DENEY HAYVANLARI	7
3.2. SUŞUN TEMİN EDİLMESİ	7
3.3. ETKENİN PASAJLANMASI VE İNOKULUM HAZIRLANMASI	7
3.4. HAYVAN GRUPLARINA İNOKULUMUN VERİLMESİ	12
3.5. KLİNİK İNCELEME	8
3.6. BİYOKİMYASAL ANALİZLER İÇİN ÖRNEK TOPLANMASI	15
3.6.1. Kan Örneklerinin Toplanması	15
3.6.2. Biyokimyasal Analizler	15
3.7. PATOLOJİK İNCELEME	15
3.7.1. Nekropsi ve Makroskopik İnceleme	15
3.7.2. Mikroskopik İnceleme	15
3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	15
4. BULGULAR	16
4.1. KLİNİK BULGULAR	17
4.2. MAKROSKOPİK BULGULAR	17
4.2.1. Kontrol Grubu	17
4.2.2. <i>Eimeria stiedai</i> Saha Suşu İnokule Edilen Grup	17
4.2.3. <i>Eimeria stiedai</i> Standart Suşu İnokule Edilen Grup	21
4.3. MİKROSKOPİK BULGULAR	21
4.3.1. Kontrol Grubu	21
4.3.2. <i>Eimeria stiedai</i> Saha Suşu İnokule Edilen Grup	21
4.3.3. <i>Eimeria stiedai</i> Standart Suşu İnokule Edilen Grup	23
4.4. BİYOKİMYASAL BULGULAR	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	54
6. KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

		<u>Sayfa no</u>
Şekil 3.1.	Sporlanmamış saha suşunun yoğunlaştırma yapıldıktan hazırlanan sürme preparattaki oosistlerinin görünümü.....	10
Şekil 3.2.	Sporlanmış saha suşundan hazırlanan sürme preparattaki sporlanmış oosistlerin görünümü.....	10
Şekil 3.3.	Sporlanmamış standart suşun yoğunlaştırma yapıldıktan hazırlanan sürme preparattaki oosistlerinin görünümü.	11
Şekil 3.4.	Sporlanmış standart suşdan hazırlanan sürme preparattaki sporlanmış oosistin görünümü.....	13
Şekil 3.5.	Saha suşu verilen tavşanlarda karın bölgesindeki sarkık görünüm.....	18
Şekil 3.6.	Standart suş verilen tavşanlarda karın bölgesindeki sarkık görünüm.....	19
Şekil 4.1.	Grup I'deki hayvanlara ait karaciğerlerden birisinin makroskopik görünümü...	19
Şekil 4.2.	Grup II'deki hayvanlarda karın boşluğunda karaciğer serozası altında sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklüklerde ve şekillerde hafif yüzeye taşkınlık gösteren nodüllerin görünümü.....	19
Şekil 4.3.	Grup II'deki hayvanlardan birisinin karaciğer serozası altında şekillenen sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklük ve şekillerdeki nodüllerin görünümü...	19
Şekil 4.4.	Grup III'deki hayvanlardan birisinin karın boşluğunda karaciğer serozası altında sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklüklerde ve şekillerdeki nodüllerin görünümü.....	21
Şekil 4.5.	Grup III'deki hayvanlardan birisinin karaciğer serozası altında şekillenen sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklük ve şekillerdeki nodüllerin görünümü...	23
Şekil 4.6.	Grup II'deki hayvanların safra kanalı epitel hücrelerinde <i>E. stiedai</i> etkenine ait gelişim siklusuna ilişkin değişik formlarının (Makrogametosit ve Oosist) görünümü.	23
Şekil 4.7.	Grup II'deki hayvanların karaciğerinde safra kanalları periferinde fibröz doku ile lenfoid hücre infiltrasyonu odakları.....	24
Şekil 4.8.	Grup II'deki hayvanların karaciğerlerinde hepatosit sitoplazmalarında farklı büyüklüklerde, keskin kenarlı, yuvarlak içleri boş vakuollerin görünümü	24
Şekil 4.9.	Grup II'deki hayvanların karaciğerinde, bazı safra kanallarının epitelleri dökülmüş, lumenleri tamamen dejenere oositler ile dolu durumda	25

	<u>Sayfa no</u>
Şekil 4.10. Grup II'deki hayvanların karaciğerinde, safra kanallarının dökülmüş epitellerinde rejeneratif ve hiperplazik değişikliklerin görünümü.	25
Şekil 4.11. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, safra kanalları oldukça genişlemiş, epitelyumları ile birlikte lumene doğru parmakvari uzantılar oluşturacak şekilde hiperplazi şekillenmişti.....	26
Şekil 4.12. Grup III'deki hayvanların karaciğer safra kanallarında hiperplazik yapıların yer yer birleşmesi sonucu lümeninde adenomatöz benzeri alanlar oluşmuştu ...	26
Şekil 4.13. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, safra kanalları periferinde bağ doku hücrelerinden fibrosit-fibroblastlar ile kollagen demetlerden oluşan fibröz doku ile çoğunluğunu lenfositlerin oluşturduğu lenfoid hücre infiltrasyon odakları	27
Şekil 4.14. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, safra kanallarına yakın hepatositlerden bazılarının sitoplazmaları içerisinde büyüklükleri farklı keskin kenarlı vakuollerin şekillendiği, vakuoler ve hidropik dejenerasyon.....	27
Şekil 4.15. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, portal bölgeden parankime yayılan fibroz doku paransimi yer yer lobüllü bir yapıya döndürmüştü	27
Şekil 4.16. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, bazı safra kanalları epitelleri dökülmüş, lumen tamamen dejenere oositler ile dolu idi.	27
Şekil 4.17. Grup III'deki hayvanların karaciğerinde, safra kanallarının dökülmüş epitellerinde rejeneratif ve hiperplazik değişikliklerin görünümü	28
Tablo 4.1. Gruplara ait serum biyokimyasal parametreleri.....	28

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Koksidiyozis, tavşan yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplar açısından önemli hastalıklar arasında yer almaktadır. Bu hastalık, Apicomplexa Phylumu (Kökü), Sporozoea Class (Alt Kök)'i Coccidia Subclass (Alt Sınıfı)'i Eucoccidiida Order (Dizi)'i Eimeriina Suborder (Alt Dizi)'i Eimeriidae Family (Aile) Eimeria Genus (Soy)'u içinde yer alan çeşitli *Eimeria* (E) türleri tarafından oluşturulmaktadır. Bu türlerden patojenitesi yüksek olan *Eimeria stiedai* tavşan karaciğer koksidiyozis'ine neden olan tek etkidir. Diğerleri barsak koksidiyozis'ine neden olmaktadır. Karaciğer koksidiyozis'i her yaştaki hayvanları etkilemekle beraber özellikle genç hayvanlarda verim kaybı ve hatta ölümlere neden olabilecek şiddette seyretmektedir. *E. stiedai* etkenine tavşanlarda rastlanma insidensi oldukça yüksektir. Bunda hayvanların duyarlılığı ve oocystlerin uzun yıllar canlılığını koruması önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle tavşanlar bu etkenleri buldukları barınma koşullarında kolayca alabilmektedir. Tavşan yetiştiriciliğinin, ülkemizde de yaygınlaştırılması, bu etkenin sebep olduğu hastalıkla mücadeleyi de önemli hale getirmektedir. Bu hastalığa bazı işletmelerde koruyucu amaçla ilac

uygulamaları yapılırsa da bu uygulamaların ne zaman başlayacağı, ne kadar süreceği ve ne zaman sona erdirileceği net olarak ortaya konulamadığından, yapılan koruyucu uygulamalardan tam olarak sonuç alınmamaktadır. Enfeksiyonu tam olarak kontrol altına almak için sürekli ilaç verilmesi pratik olmamakta birlikte, yetiştiriciye büyük ekonomik yük getirmekte ve etinden yararlanılan bu hayvansal üründe ilaç kalıntı sorunu ortaya çıkmaktadır. Oysa tavşan yetiştiriciliğinde belirli dönemlerde salgın tarzında görülen hastalık, gözlenen klinik belirtilerle birlikte, tavşanların gaitalarında önemli sayıda oosist atımına dayalı teşhisin yapılması ve sağaltıma başlanması en mantıklı yaklaşım olacaktır. Burada ise en önemli nokta, mümkün olduğu kadar kısa süreli ilaç kullanarak hastalığın en kısa sürede ortadan kaldırılmaya çalışılmasıdır. Çünkü etkenin sebep olacağı zararlar (verim kaybı, yemden yararlanma oranında düşüş, ölüm) da o kadar düşük olacaktır. Bu da yetiştiriciler açısından çok önemli bir hususu oluşturmaktadır.

Karaciğer koksidiyozis'inde hafif ve orta şiddetteki enfeksiyonlarda genellikle kilo kaybı oluşurken, şiddetli enfeksiyonlarda karaciğerdeki ağır harabiyetten dolayı fonksiyonel bozukluklar meydana gelir. Bu durum görülen genel bozuklukların nedenidir. İlerlemiş vakalarda ikterus ve sekonder bakterilerin işe karışması ateşin görülmesine neden olabilmektedir. Hastalıktan ölmüş hayvanların yapılan nekropsilerinde karaciğerin büyüdüğü, üzerinde çok sayıda gri-beyaz renkli birbirleriyle birleşmiş nodüller yapıların varlığı dikkati çekmektedir. Hafif seyirli vakalarda nodüller toplu iğne başından büyük değildir. Ağır enfeksiyonlarda ise, karaciğer vücut ağırlığının % 20'sinden daha fazla olabilir ve yüzeyi birleşen grimsi beyaz veya sarımsı nodüller arasından güçlükle seçilir. Doku örneklerinin incelenmesinde *E.stiedai*'nin intrahepatik safra epitellerini etkilediği görülür. Bilier epitelin yıkımı lezyonların temelini oluşturur. Hastalık seyri uzun olan hayvanlarda ise epitel hücre proliferasyonu en belirgin özellik olmaktadır. Epitel hücre

proliferasyonu nedeni ile safra kanalları genişler, adenomatöz hiperplaziye benzeyen papiller kıvrımlar şekillenir. Fazla sayıda şekillenen gametosit ve oosistler ve yıkım ürünleri safra kanallarının tıkanmasına neden olmaktadır. Bu sahalarda yangısal reaksiyon ve dev hücrelerinin şekillenmesi belirgindir. Safra kanallarının bu oldukça genişlemiş yapısı, komşu karaciğer parankimi yerini almasına neden olur ve makroskobik olarak gayri muntazam şekilli gri renkli sahalarda tarzında görülür. Bunlar kapsülden de çökük odaklar şeklinde görülürler.

Şiddetli enfeksiyonlarda karaciğerdeki ağır yıkımdan dolayı fonksiyonel bozukluklar meydana gelir. Tavşanlarda karşılaşılan karaciğer koksidiyozis olgularında saha ve standart suşla oluşturulan herhangi bir deneysel çalışmaya rastlanılmamıştır. Özellikle de etkenin karaciğere yerleşmesi ve karaciğerde hasara sebep olması nedeniyle bazı kan serumu parametrelerinde değişimlerin olması kaçınılmazdır. Tavşanlarda deneysel olarak yapılacak bu çalışmada amaç, oluşacak enfeksiyonların klinik, patolojik, biyokimyasal bulgularının karşılaştırılması olup, ilk kez saha ve standart *E. stiedai* suşlarının birlikte kullanılması ve oluşacak lezyonların karşılaştırılması çalışmaya orjinallik kazandırmış olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.HASTALIĞIN TANIMI VE ETKENİN SINIFLANDIRILMASI

Koksidiozis, tavşan, kanatlı, keçi, koyun, sığır gibi tüm evcil ve yabani hayvanlarda görülen özellikle de genç hayvanlarda ölüme kadar varabilen ekonomik kayıplara yol açan protozoer bir hastalıktır (1-5). Bu hastalık, Apicomplexa Phylumu (Kökü), Sporozoea Class (Alt Kök)'i Coccidia Subclass (Alt Sınıfı)'ı Eucoccidiida Order (Dizi)'i Eimeriina Suborder (Alt Dizi)'i Eimeriidae Family (Aile) Eimeria Genus (Soy)'u içinde yer alan çeşitli *Eimeria* (E) türleri tarafından oluşturulmaktadır.

2.2. TAVŞAN KOKSİDİYOZU VE ETKEN

Tavşanlarda karaciğer ve barsak koksidiozisi olmak üzere 2 tür koksidiozis'e rastlanmaktadır. Bugüne kadar tanımlanan 25'den fazla *Eimeria* türünden bazılarının, sinonim oldukları tespit edilmiş, buna göre dominant tür sayısı 10 olarak kararlaştırılmıştır. Bu türlerden patojenitesi yüksek olan *E. stiedai* tavşan karaciğer koksidiozisine

neden olan tek etkindir, diğerkleri (*E. coecicola*, *E. exigua*, *E. flavescens*, *E. intestinalis*, *E. irresidua*, *E. magna*, *E. media*, *E. perforans*, *E. priiformis*) barsak koksidiyozis'ine neden olmaktadır (1, 3, 5-8).

2.3. KONAĞI, BULAŞMA ŞEKLİ VE ETKENİN HAYAT SIKLUSU

Karaciğer koksidiyozis etkeni *E. stiedai* tüm dünyada evcil tavşanlarda ve laboratuvar tavşanlarında görülen yaygın tür olup, önemli hastalık tablosuna yol açmaktadır (1, 4, 5, 7, 9-11). Enfeksiyon, sporlanmış oosistlerle bulaşmış yem ve suların hayvanlar tarafından alınmasıyla başlamaktadır. Su ve gıdayla alınan sporlanmış *E. stiedai* oosistleri ince barsakta açılmakta ve sporozoitler serbest hale geçmektedir. Buradan mezenterik lenf nodüllerine geçen sporozoitler, lenf veya hepatik portal sistem yoluyla karaciğere ulaşmaktadır. Sporozoitler safra kanallarının epitel hücrelerine girerek konakçı hücrelerinin nukleuslarına yakın sitoplazmada gelişmektedir (1, 3, 5, 7). Bu gelişme genellikle enfeksiyondan 5-6 gün sonra görülmesine karşın, ağır enfeksiyonlarda sporozoitler enfeksiyondan 72 saat sonra safra kanalı epitel hücrelerinde görülebilmektedir. *E. stiedai* sporozoitleri burada en az 6 nesil merogoni geçirmektedirler. Her merogoni safhasında 2 tür farklı merozoit oluşturan meront meydana gelmektedir. Gametogoni en erken enfeksiyondan 8 gün sonra gözlenmektedir (1, 2, 5, 7).

2.4. ENFEKSİYON SÜRESİ, GÖRÜLME YAŞI VE KLİNİK BİYOKİMYASAL BULGULAR

2.4.1. Enfeksiyonun Süresi

Hastalıkta prepatent süre 14-16 gündür, ancak enfeksiyondan 23 gün sonra oosist atılımı maksimum seviyede olmaktadır. Dışkıyla oosist atılımının enfeksiyondan sonraki 37. güne kadar sürebildiği bildirilmektedir (1, 5, 7, 9).

2.4.2. Enfeksiyonun Görülme Yaşı ve Oluşumunda Etkili Olan Faktörler

Hastalığa her yaştaki tavşanlarda rastlanmakla beraber 8-12 haftalık tavşanlarda daha şiddetli seyretmektedir (1, 12, 13, 22). Klinik bulguların ortaya çıkmasında; etkenin patojenitesi, alınan oosist sayısı, alınma süresi, şizont (meront) nesilleri ve her şizont içindeki merozoit sayısı, etkenin yerleştiği organ veya dokunun fonksiyonel önemi, hayvanın yaşı, ırkı ve bağışıklık durumu, reenfeksiyon zamanı ve şiddeti önem taşımaktadır (1, 3, 4, 14-16).

2.4.3. Klinik Bulgular

Eimeria stiedai'nin neden olduğu hafif ve orta şiddetteki enfeksiyonlarda genellikle kilo kaybı dışında belirgin klinik semptom görülmezken, çok şiddetli enfeksiyonlarda karaciğerin ağır yıkımından dolayı fonksiyonel bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Hasta tavşanlarda iştahsızlık, durgunluk, diare veya konstipasyon, ilerleyen zayıflama, karaciğer büyümesi, asites, sarılık, karında sarkıklık ve ölüm görülmektedir. (1, 2, 4, 5, 7, 14, 15, 17).

Mimioğlu ve ark. (4) koksidiyozis'e yakalanan tavşanların iştahsız oldukları, az hareket ettikleri, genellikle karınlarının üzerine yattıkları, bitkinleştikleri, iyi gelişemedikleri, tüylerinin karıştığı, mukozalarının solgun olduğu, iyi beslenmeyen tavşanların öldükleri ve mortalite oranının % 60'a kadar çıkabildiğini belirtmişlerdir.

2.4.4. Biyokimyasal Bulgular

Eimeria stiedai tarafından oluşturulan karaciğer koksidiyozis'inde serum aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz (17), gamma

glutamiltransferaz (14, 18), alkalen fosfataz (7, 19) aktivitelerinde artış, albumin düzeyinde azalma, globulin ve total protein düzeylerinde artış (20, 21) görüldüğü bildirilmektedir.

2.5. PATOLOJİK BULGULAR

2.5.1. Makroskopik Bulgular

E.stiedai'ye bağlı enfeksiyondan ölmüş hayvanların post-mortem muayenesinde, karaciğerin önemli ölçüde büyüdüğü ve üzerinde çok sayıda grimsi beyaz, birbirleriyle birleşen nodüllerin varlığı dikkat çekmektedir. Enfeksiyonun şiddetine göre lezyonlar değişiklik göstermektedir. Hafif enfeksiyonlarda karaciğer nodülleri toplu iğne başından daha büyük değildir. Ağır enfeksiyonlarda ise karaciğer vücut ağırlığının %20'sinden daha fazla olabilir ve yüzeyi birleşen grimsi beyaz ve sarımsı nodüller arasından güçlükle görülebilmektedir (1, 2, 4, 7).

2.5.2. Mikroskopik Bulgular

Ölmüş tavşanlardan alınan doku örneklerinde *Eimeria stiedai* intrahepatik safra epitellerini etkiler. Bilier epitelin tahribatı lezyonların temelini oluşturur. Hastalık seyri uzun olan hayvanlarda ise epitel hücre proliferasyonu en belirgin özellik olmaktadır. Epitel hücre proliferasyonu nedeni ile safra kanalları genişler, adenomatöz hiperplaziye benzeyen papiller kıvrımlar şekillenir. Fazla sayıda şekillenen gametosit ve oosistler safra kanallarını tıkanmasına neden olmaktadır. Bu sahalarda yangısal reaksiyon ve dev hücrelerinin şekillenmesi belirgindir. Safra kanallarının bu oldukça genişlemiş segmenti, komşu karaciğer parankimi yerini alır ve makroskopik olarak gayri muntazam şekilli gri renkli sahalarda şeklinde görülür. Bunlar kapsüldende çökük odaklar tarzında görülürler. Şiddetli enfeksiyonlarda karaciğerdeki ağır harabiyetten dolayı fonksiyonel bozukluklar meydana gelir (1, 2, 4, 7, 8, 17).

2.5.3. Hastalığın Önemi

Hastalığın pato-mekanizması, karaciğerin vitamin alma ve depolama yeteneğinin azalması sonucu E vitamini rezervlerinin önemli ölçüde tükenmesi veya koksidiyal enfeksiyon sonucu değişmiş patolojik kondisyon altında vitamin kullanımının veya yıkımının artmasından kaynaklanmaktadır. Yapılan deneyler “alpha-tocopherol”ün hasta tavşanlardaki intestinal emiliminin bozulmadığını, vitaminin karaciğerden kaybolduğunu göstermektedir (1, 7).

2.5.4. Hastalığın Tanısı

Koksidiyozis’in teşhisi dışkıda *Eimeria* oosistlerinin görülmesiyle yapılabilirse de, çok sayıda oosist çıkaran tavşanlarda ciddi klinik belirtilerin görülmemesi de muhtemeldir. Kesin teşhis için hasta hayvanların post-mortem incelenmesi gerekmektedir. Otopside, karaciğer koksidiyozis’ini teşhis için karaciğer ve safra yollarında görülen lezyonlardan alınan kazıntının mikroskopta muayenesi yapılır veya bu lezyonlardan alınan kesitler boyandıktan sonra histolojik olarak incelenir. Yapılan muayenede etken bulunmasıyla koksidiyozis tanısı konur (1, 4, 5, 17).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

Çalışmamız da 6-8 haftalık, 1-1,5 kg ağırlığında toplam 36 adet sağlıklı yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar, 3'er ve 4'erli olarak tel kafeslerde tutuldu, pelet yem ile adlibitium olarak beslendi ve kafeslerinde sürekli temiz su bulunduruldu.

3.2. SUŞUN TEMİN EDİLMESİ

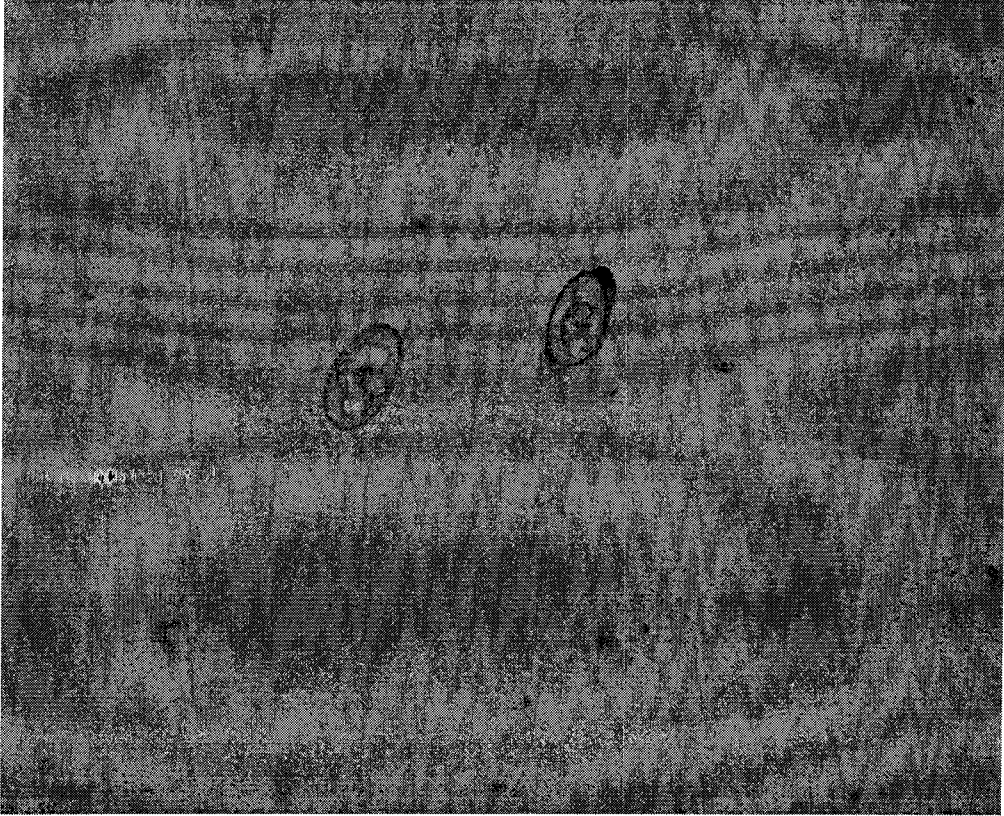
Tavşanlarda deneysel karaciğer koksidiyozisi oluşturulmasında Kayseri'den tavşan yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde karşılaşılan doğal karaciğer koksidiyosiz olgularından *E. stiedai* saha suşu elde edildi. Standart *E. stiedai* (Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Inada-Cho, Obihiro-City Hokkaido, Japan) suşu Dr.Y.Omata'dan temin edildi.

3.3. ETKENİN PASAJLANMASI VE İNOKULUM HAZIRLANMASI

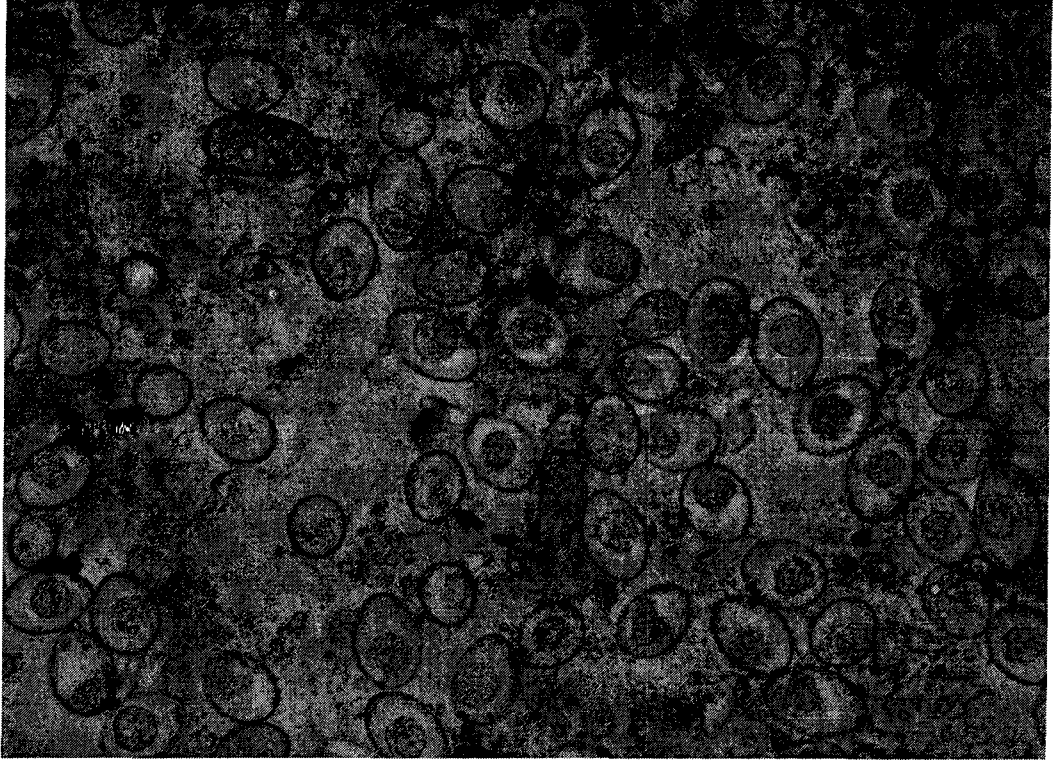
Etkenin çoğaltılması ve patojenitesinin artırılması amacıyla tavşanlarda pasajlama işlemi yapıldı (Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4). *Eimeria stiedai*'nin sporlu oosistlerini içeren potasyum dikromatlı süspansiyon, santrifüj tüplerine bölünerek 2000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstteki sıvı kısmı atılarak tüplerin dipindeki tortu bir kaba toplandı. Potasyum dikromattan oosistleri arındırmak için distile su ile önceki miktara tamamlanarak homojen hale getirilip aynı devir ve zamanda aynı işlemler 3-4 kez yapıldı. En son işlemlerden sonra tüplerin diplerindeki tortular bir kapa toplanıp, distile su ile sulandırıldı. Bu solusyondan Eppendorf mikropipeti yardımıyla 0.15 ml'si alınıp Long ve ark (22)'nin bildirdiği yöntemle göre McMaster veya Thoma lamının tüm karelerine düşen oosistler 10'luk objektif altında Olympus mikroskobunda sayılarak ortalaması alınacak ve 1 ml'sinde 50.000 adet sporlu oosist olacak şekilde hazırlanan inokulum distile su ile sulandırıldı.



Şekil 3.1. Sporlanmamış saha suşunun yoğunlaştırma yapıldıktan hazırlanan sürme preparattaki oosistlerinin görünümü. x200



Şekil 3.2. Sporlanmış saha suşundan hazırlanan sürme preparattaki sporlanmış oosistlerin görünümü.. x200



Şekil 3.3. Sporlanmamış standart suşun yoğunlaştırma yapıldıktan hazırlanan sürme preparattaki oosistlerinin görünümü. x200



Şekil 3.4. Sporlanmış standart suşudan hazırlanan sürme preparattaki sporlanmış oosistin görünümü. x200

3.4. HAYVAN GRUPLARINA İNOKULUMUN VERİLMESİ

Hayvanları tek tek tartarak her bir grupta 12 hayvan bulundurulan 3 grup oluşturuldu. Gruplar 10 gün gaitaları *Coccidia* etkenleri yönünden muayeneyi takiben etken taşımadıkları belirlendikten sonra çalışmada kullanıldı. Bir ml'sinde *E. stiedai*'nin 50.000 sporlu oosistini içeren inokulumdan II., III. grupta bulunan tavşanların her birine 1 ml ağız yoluyla sonda ile verildi.. Birinci grup tavşanlar herhangi bir etken verilmeden tüm araştırma süresince diğer grupların kontrolü olarak tutuldu. İkinci grupta ki tavşanlara sahadan elde edilen *Eimeria stiedai* etkeni ağız yoluyla sonda ile verildi. III. grup tavşanlara *Eimeria stiedai* standart süşu benzer şekilde verildi ve bu şekilde enfeksiyon ve kontrol grupları oluşturuldu.

3.5. KLİNİK İNCELEME

Çalışma boyunca hayvanlarda gelişen klinik bulgular gözlemlendi. Klinik olarak; tavşanlarda iştahsızlık, durgunluk, diyare veya konstipasyon, zayıflama, karaciğer büyümesi, asites, sarılık, karında sarkıklık (Şekil 3.5, 3.6) ve ölüm şekillenip şekillenmediğine bakıldı.



Şekil 3.5. Saha suşu verilen tavşanlarda karın bölgesindeki sarkık görünüm.



Şekil 3.6. Standart suş verilen tavşanlarda karın bölgesindeki sarkık görünüm.

3.6. BİYOKİMYASAL ANALİZLER İÇİN ÖRNEK TOPLANMASI

Etken inokulasyonundan önce ve inokulasyondan sonra 20 gün ve deneme sonu olan 30. günlerde tavşanlardan kan numuneleri toplandı.

3.6.1. Kan Örneklerinin Toplanması

Hayvanların kulak veya vena jugularisinden biyokimyasal analizler için vacutainer serum tüplerine 5 ml kan alındı. Kan alma işlemi, tavşanın masa üzerinde zaptı raptı (hareketsizleştirme) yapıldıktan ve venanın seyrettiği bölgenin kıllarının traşı ve alkolle temizliği yapıldıktan sonra gerçekleştirildi.

3.6.2. Biyokimyasal Analizler

Vacutainer tüpüne alınan kan örnekleri 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüje edilerek serumlar ayrılacak ve analize kadar -20 °C'de saklandı. Serum alkalen fosfataz (ALP), gamma glutamiltransferaz (GGT), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), aktiviteleri, albumin, globulin ve total protein değerlerine ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik olarak bakıldı.

3.7. PATOLOJİK İNCELEME

3.7.1. Nekropsi ve Makroskopik inceleme

Çalışma sürecinde tüm gruplarda ölen ile etken verilip II. ve III. gruptaki deneme sonuna kadar hayatta kalan tüm tavşanlara fakültemizden alınan etik kurul onayında da belirtildiği şekilde dekapitasyon (boyun bölgesinden bıçakla kesme) yöntemi uygulandı. Takiben nekropsileri yapıp (Çalışma sonu olan 30.cu günde) tavşanları makroskopik muayenesini takiben hayvanlardan sağlam ve

hasta karaciğerler alınıp makro resimleri çekildikten sonra histopatolojik inceleme için %10 nötral formalin solusyonuna alınarak tespit edildi.

3.7.2. Mikroskopik İnceleme

Karaciğer dokusunun trimleme işlemini takiben histokinet cihazında dereceli alkol, ksilol ve ksilol-parafin serisinden geçirilerek parafinde bloklandı. Bu hazırlanan bloklar mikrotom ile kesilip (5-6 mikron) Hematoksilen-Eosin (HxE) ile boyanıp ışık mikroskopuyla incelendi.

3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Verilerin istatistiki analizlerinde SPSS 10.0 istatistik programı kullanıldı. Veriler aritmetik ortalama ve standart sapma şeklinde ifade edildi. Gruplar arası önemliliklerin belirlenmesinde $p < 0,05$ göre tek yönlü varyans analizi yapıldı. Farklı olan gruplar ise Duncan testi ile belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. KLİNİK BULGULAR

Çalışma boyunca kontrol grubundaki tavşanlarda herhangi bir klinik bulguya rastlanmadı. Beden ısıları normal olup yem yeme ve su içmeleri normaldi. *Eimeria stiedai* saha suşu inokule edilen II. ve *Eimeria stiedai* standart suşu inokule edilen III. gruplardaki tavşanlarda inokulasyondan sonraki 20. günden itibaren iştahta azalma, hafif durgunluk, mukoz membranlarında hafif sarılık ve karında genişleme belirlendi.

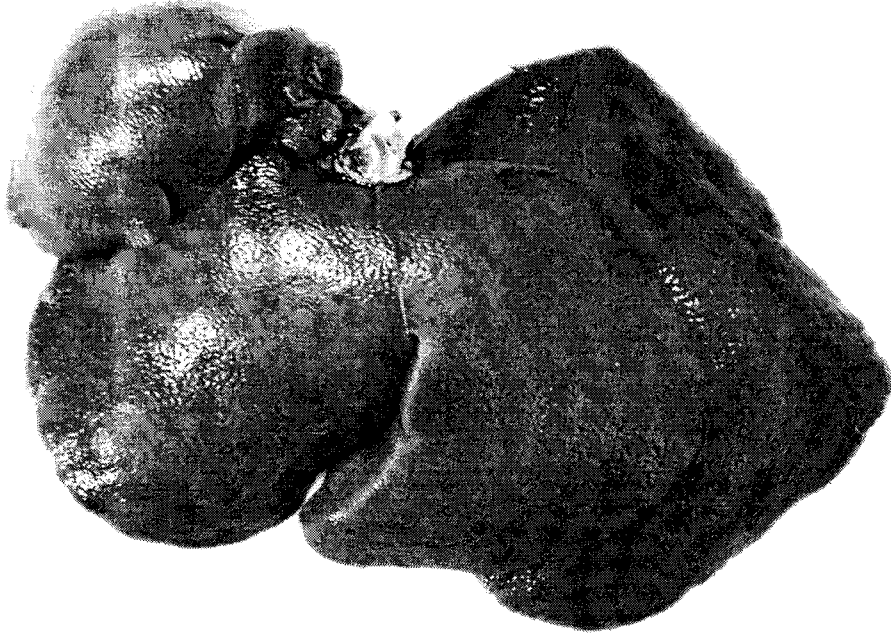
4.2. MAKROSKOBİK BULGULAR

4.2.1. Kontrol Grubu

Birinci gruptaki tavşanların nekropsisinde herhangi bir makroskopik lezyona rastlanmadı (Şekil 4.1).

4.2.2. *Eimeria stiedai* Saha Suşu Inokule Edilen Grup

Eimeria stiedai saha suşu inokule edilen enfekte II. grubunda karaciğerler oldukça büyümüş, safra kanalları genişlemiş, karaciğerin serozası altında sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklüklerde ve şekillerde hafif dışarı taşkınlik gösteren nodüller gözlemlendi (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3). Bu nodüllerin kesit yüzeyinden sarımsıtrak krem renkte akışkan bir sıvının aktığı belirlendi.



Şekil 4.1. Grup I'deki hayvanlara ait karaciğerlerden birisinin makroskopik görünümü.



Şekil 4.2. Grup II'deki hayvanlarda karın boşluğunda karaciğer serozası altında sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklüklerde ve şekillerde hafif yüzeye taşkınlık gösteren nodüllerin görünümü.



Şekil 4.3. Grup II'deki hayvanlardan birisinin karaciğer serozası altında şekillenen sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklük ve şekillerdeki nodüllerin görünümü.

4.2.3. *Eimeria stiedai* Standart Suşu İnokule Edilen Grup

Eimeria stiedai standart suşu inokule edilen enfekte III grubunda, II gruplardakinden daha şiddetli olarak karaciğerler oldukça büyük, safra kanalları genişlemiş ve belirginleşmişti, seroza altında karaciğerin tamamını kaplamış durumda sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklüklerde ve şekillerde dışarı taşkınlık gösteren nodüller gözlemlendi (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5). Bu nodüllerin kesit yüzeyinden sarımsıtrak krem renkte akışkan oosist içeren sıvının aktığı belirlendi.

4.3. MİKROSKOBİK BULGULAR

4.3.1. Kontrol Grubu : Birinci gruptaki kontrol tavşanlardan alınan dokuların mikroskopik incelenmesinde herhangi bir patolojik lezyona rastlanmadı.

4.3.2. *Eimeria stiedai* Saha Suşu İnokule Edilen Grup

Eimeria stiedai saha suşu inokule edilen enfekte II. grubunda mikroskopik olarak safra kanalları genişlemiş, epitelleri ile birlikte lumene doğru parmakvari uzantılar oluşturacak şekilde hiperplazi olmuştu. Safra kanalı epitel hücrelerinde *E. stiedai* etkenine ilişkin değişik gelişim siklus formları dikkati çekti (Şekil 4.6). Bu kanalların periferinde fibröz doku ile lenfoid hücre infiltrasyonu ve hepatositlerde hidropik dejenerasyon gözlemlendi (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8). Etkenden uzak parankim doku içerisinde fokal nekroz odakları, fibröz doku ve içerisinde lenfoid hücrelerin bulunduğu alanlar dikkati çekti. Etkenin gözlenmediği portal alanlarda fibroz dokuda artış ve lenfoid hücre infiltrasyonları görüldü. Bazı safra kanalları epitelleri tamamen dökülmüş, lumen tamamen dejenere oositler ile dolu idi (Şekil 4.9). Bu etkenle dolu safra kanalları epitelleri bazı alanlarda birkaç safra kanalının birleşmesiyle geniş odaklar tarzında yerleşim göstermekteydi.

Bu kanalların dökülmüş epitellerinin yerinde rejeneratif ve hiperplazik değişiklikler dikkati çaktı (Şekil 4.10)



Şekil 4.4. Grup III'deki hayvanlardan birisinin karın boşluğunda karaciğer serozası altında sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklüklerde ve şekillerdeki nodüllerin görünümü.

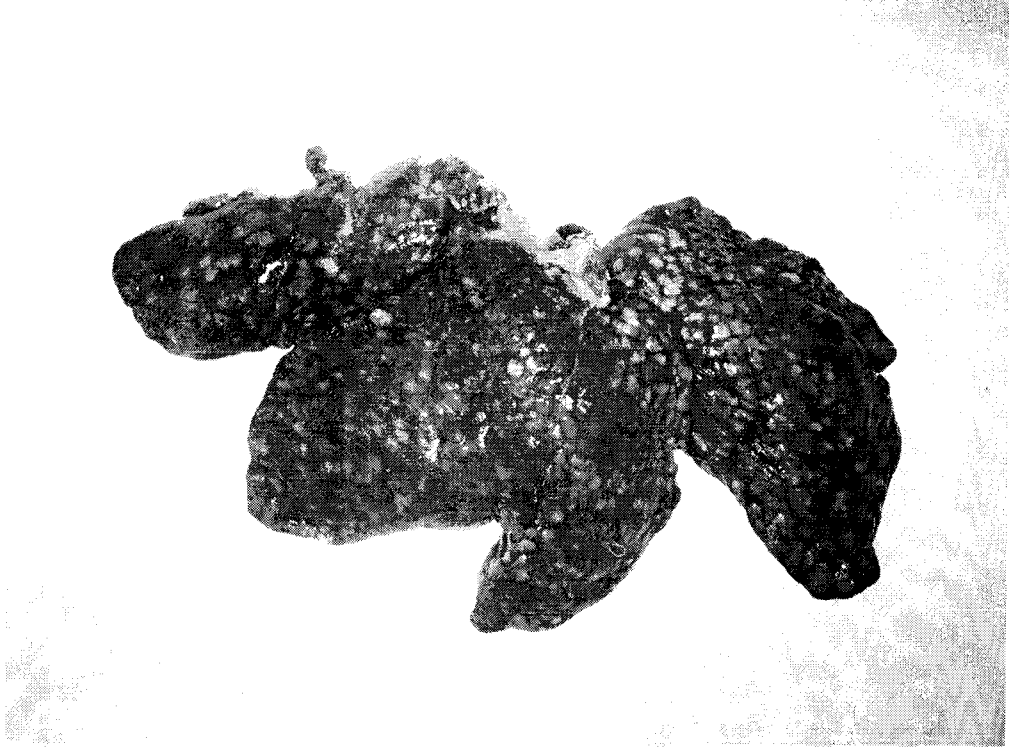
4.3.3. *Eimeria stiedai* Standart Suşu Inokule Edilen Grup

Eimeria stiedai standart suşu inokule edilen enfekte III. grubunda mikroskopik lezyonlar çok daha şiddetli olmak kaydıyla safra kanalları oldukça genişlemiş, epitelleri ile birlikte lumene doğru parmakvari uzantılar oluşturacak şekilde hiperplazi olmuştu (Şekil 4.11). Bu hiperplazik yapıların yer yer birleştiği için safra kanalı lümeninde adenomatöz benzeri alanlar oluşmuştu (Şekil 4.12). Safra kanalı epitel hücrelerinde *E.stiedai* etkenine ilişkin değişik gelişim siklus formları

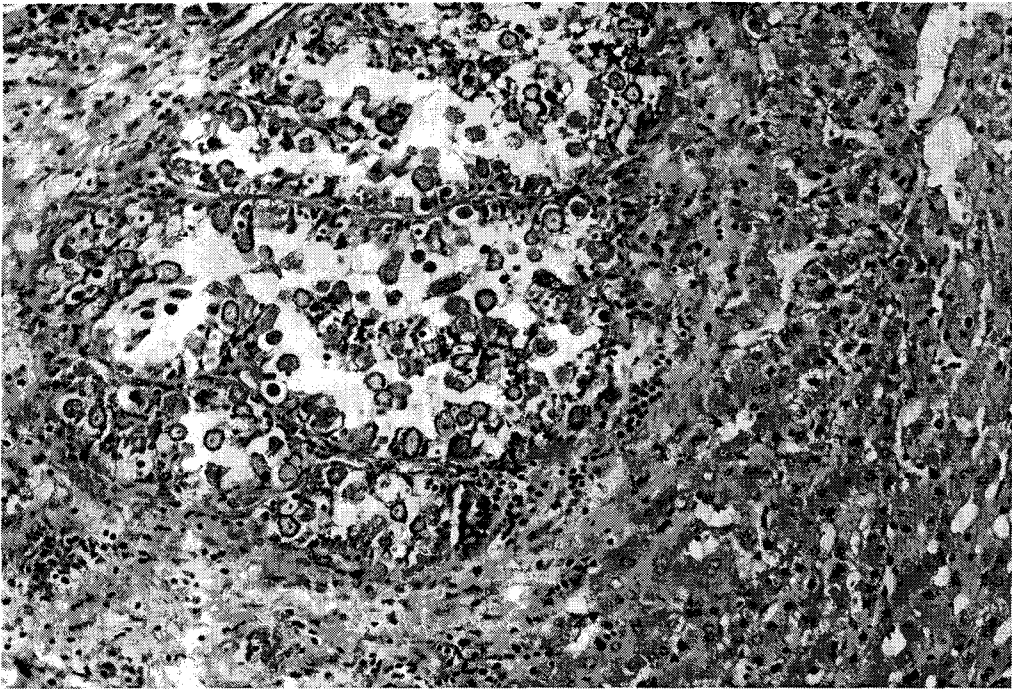
dikkati çekti. Çoğunluğu makrogamet ve oositlerden oluşan bu formlar yanında dejenere oositler ile epitel hücrelerinde dejeneratiften nekroza kadar varan değişiklikler görüldü. Bu kanalların periferinde bağ doku hücrelerinden oluşan fibrosit-fibroblastlar ile kollagen demetlerden oluşan fibröz doku ile çoğunluğunu lenfositlerin oluşturduğu lenfoid hücre infiltrasyon odakları görüldü (Şekil 4.13). Bu dokuya yakın hepatositlerden bazılarının sitoplazmaları içerisinde büyüklükleri farklı vakuol oluşumları ile bazılarında hücre bütünlüğünü tamamen bozulup vakuoler ve hidropik dejenerasyonlar uğradığı gözlemlendi (Şekil 4.14).

Etkenden uzak parankim doku içerisinde pembe homojen renkli fokal nekroz odakları, fibröz doku ve içerisinde çoğunluğu lenfositlerden oluşan lenfoid hücre infiltrasyon odaklarının bulunduğu alanlar dikkati çekti. Etkenin gözlenmediği portal alanlarda fibrosit, fibroblast ve kollagen demetlerden oluşan fibroz dokuda artışı ve lenfoid hücre infiltrasyonları görüldü. Portal bölgeden parankime yayılan fibroz doku paranşimi yer yer lobüllü bir yapıya döndürmüştü (Şekil 4.15). Bazı safra kanalları epitelleri tamamen dökülmüş, lumen tamamen dejenere oositler ile dolu idi (Şekil 4.16).

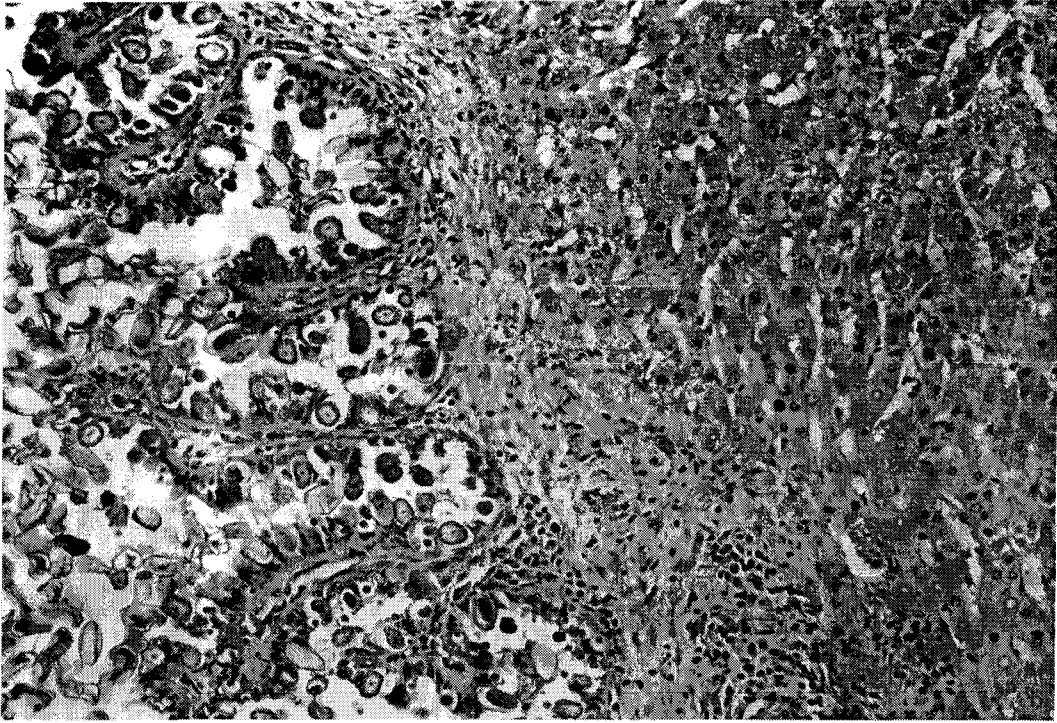
Bu etkenle dolu safra kanallar epitelleri bazı alanlarda birkaç safra kanalının birleşmesiyle geniş odaklar tarzında bazal membran üzerinde tek tük safra kanal epitel hücresinin varlığı ibaret bir yerleşim göstermekteydi. Bu kanalların dökülmüş epitellerinin yerinde rejeneratif ve hiperplazik değişiklikler dikkati çekti (Şekil 4.17)



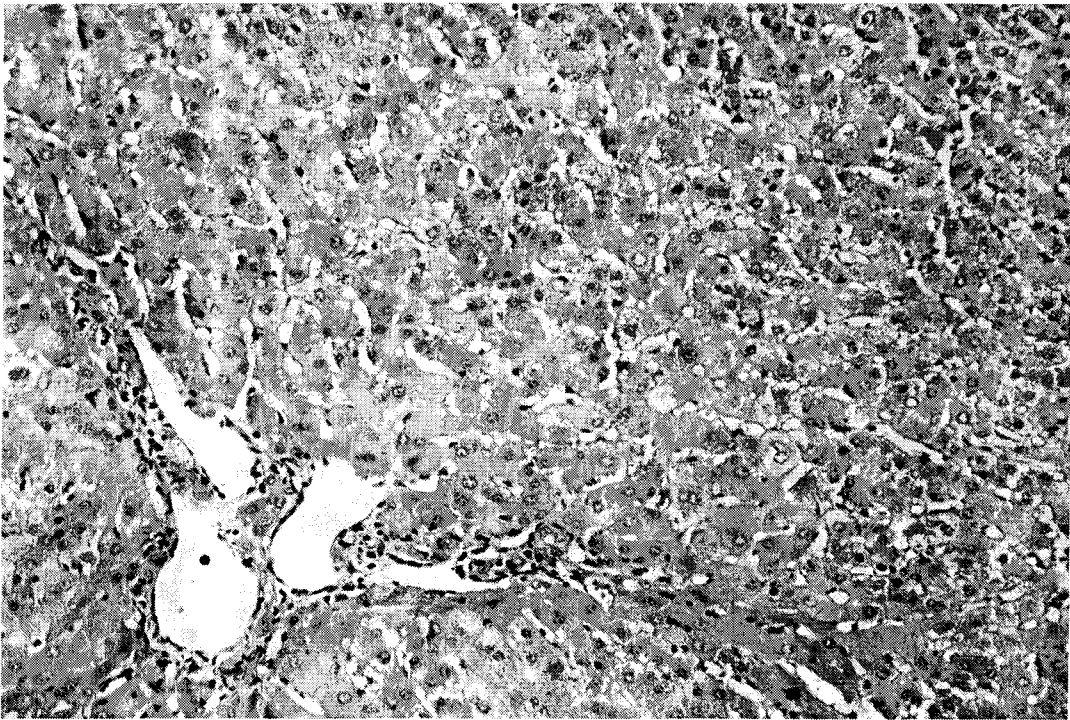
Şekil 4.5. Grup III'deki hayvanlardan birisinin karaciğer serozası altında şekillenen sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklük ve şekillerdeki nodüllerin görünümü.



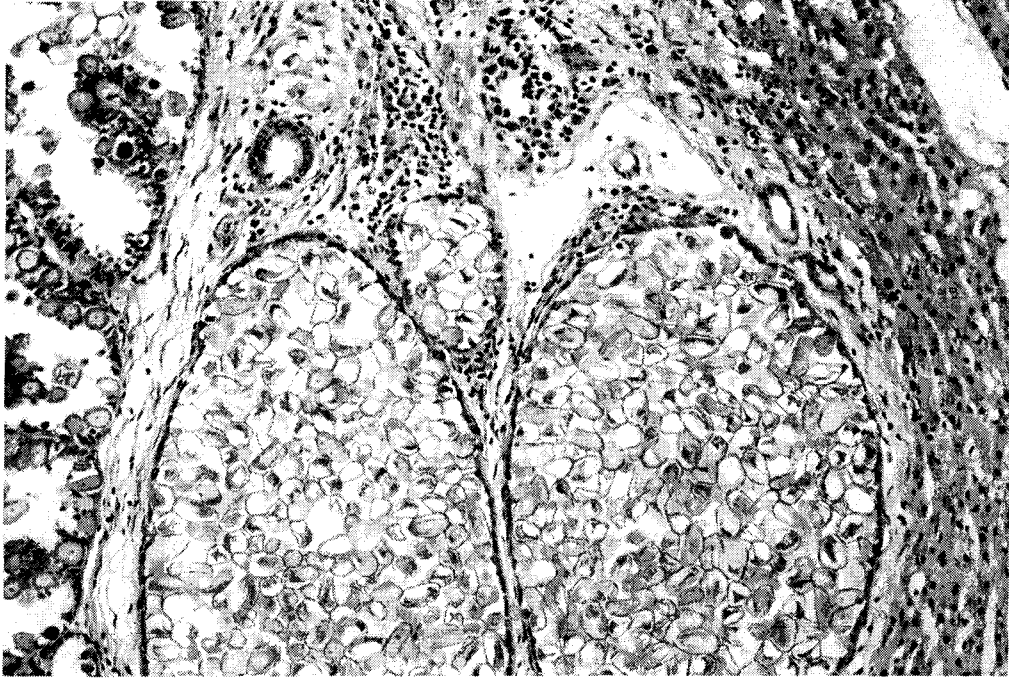
Şekil 4.6. Grup II'deki hayvanların safra kanalı epitel hücrelerinde *E. stiedai* etkenine ait gelişim siklusuna ilişkin değişik formlarının (Makrogametosit ve Oosist) görünümü. Karaciğer, HxE., x200.



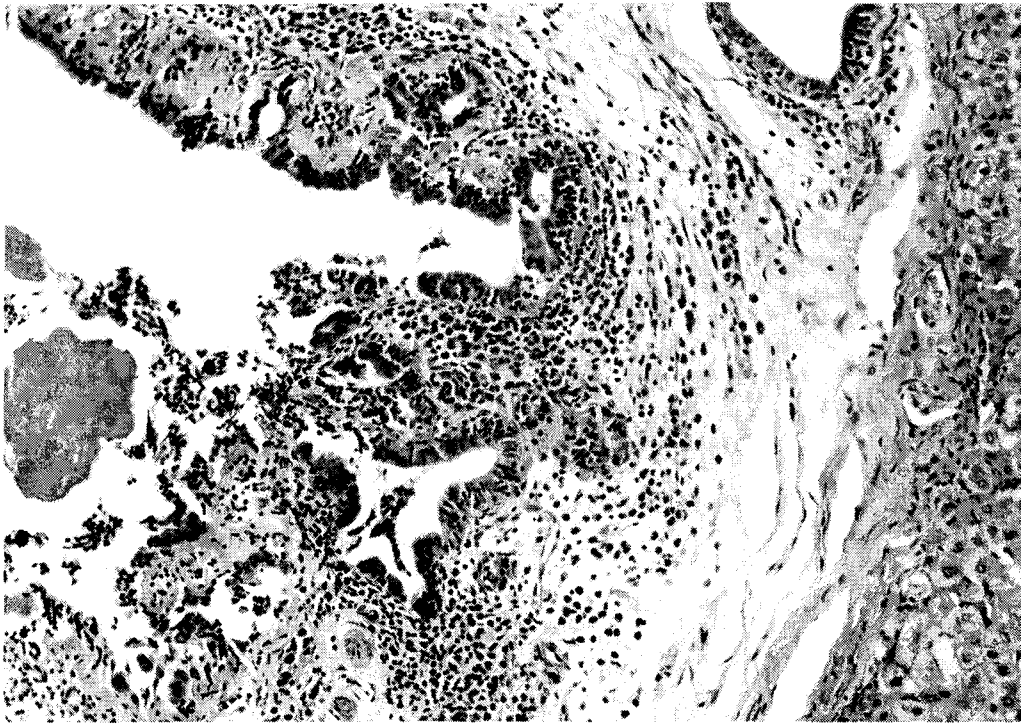
Şekil 4.7. Grup II'deki hayvanların karaciğerinde safra kanalları periferinde fibröz doku ile lenfoid hücre infiltrasyonu odakları. Karaciğer, HxE., x200.



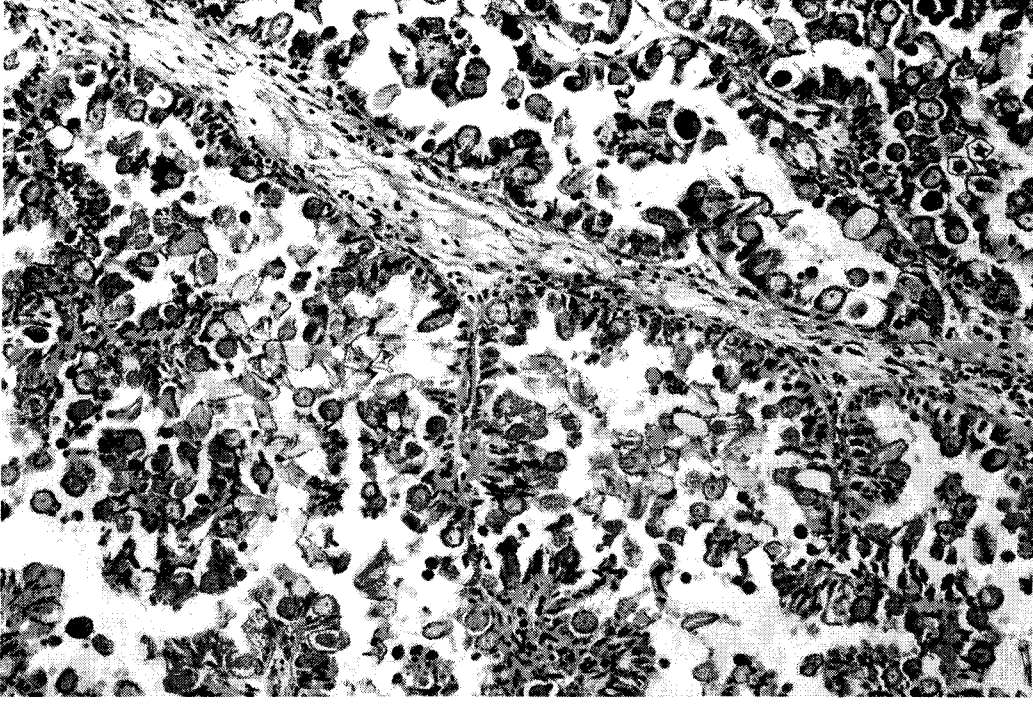
Şekil 4.8. Grup II'deki hayvanların karaciğerlerinde hepatosit sitoplazmalarında farklı büyüklüklerde, keskin kenarlı, yuvarlak içleri boş vakuollerin görünümü. Karaciğer, HxE., x100.



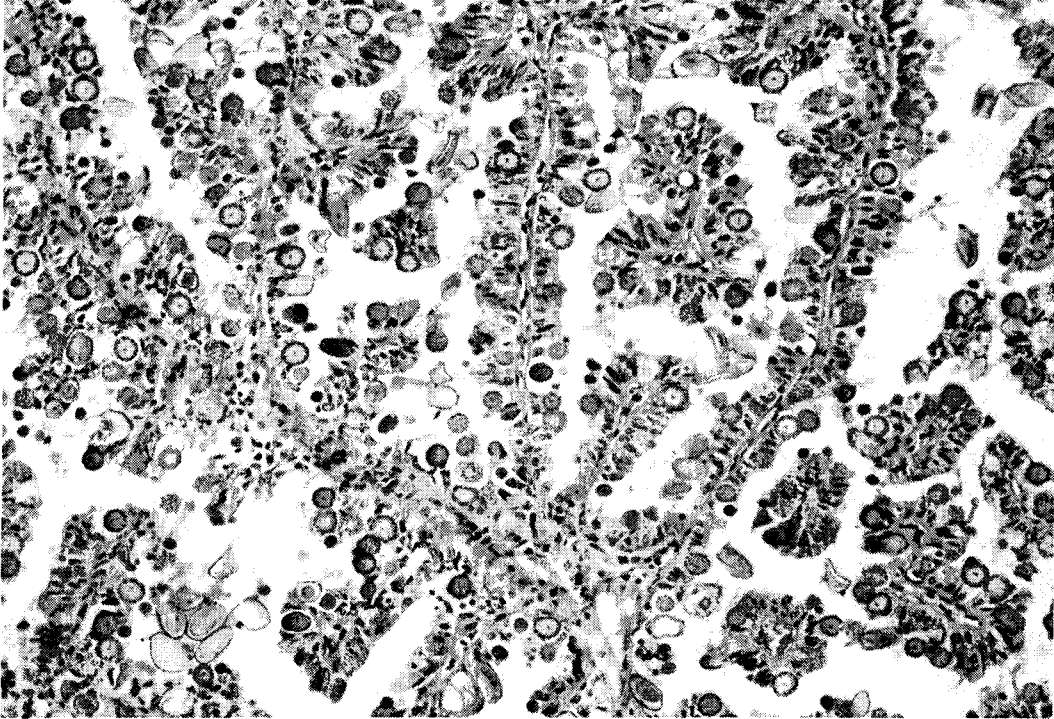
Şekil 4.9. Grup II'deki hayvanların karaciğerinde, bazı safra kanallarının epitelleri dökülmüş, lumenleri tamamen dejenere oositler ile dolu durumda. Karaciğer, HxE., x200.



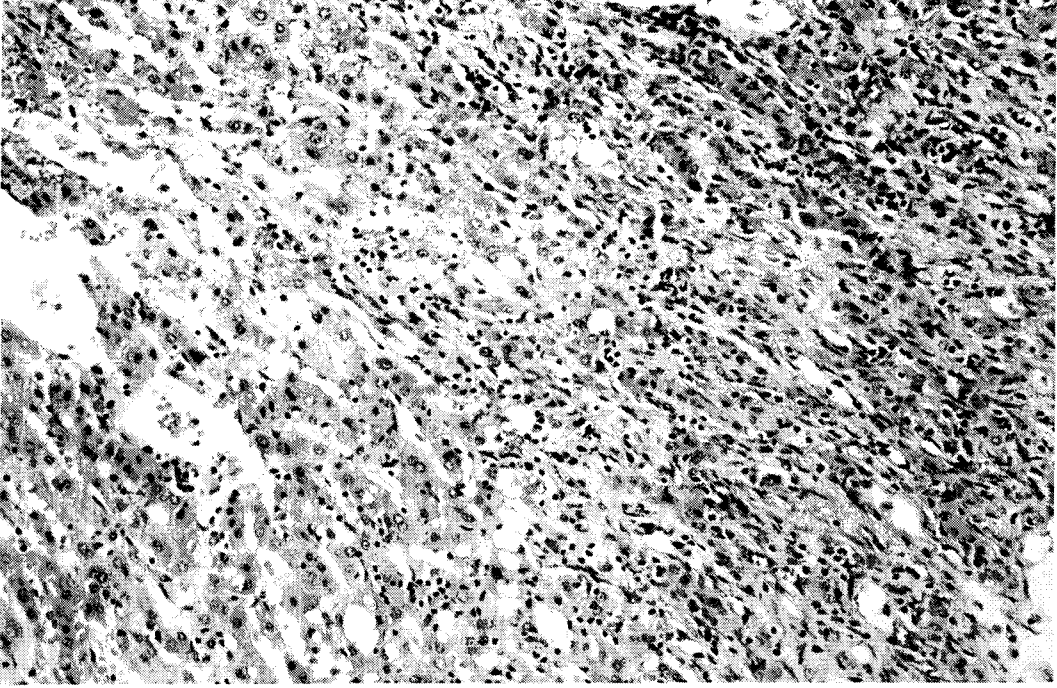
Şekil 4.10. Grup II'deki hayvanların karaciğerinde, safra kanallarının dökülmüş epitellerinde rejeneratif ve hiperplazik değişikliklerin görünümü. Karaciğer, HxE., x200.



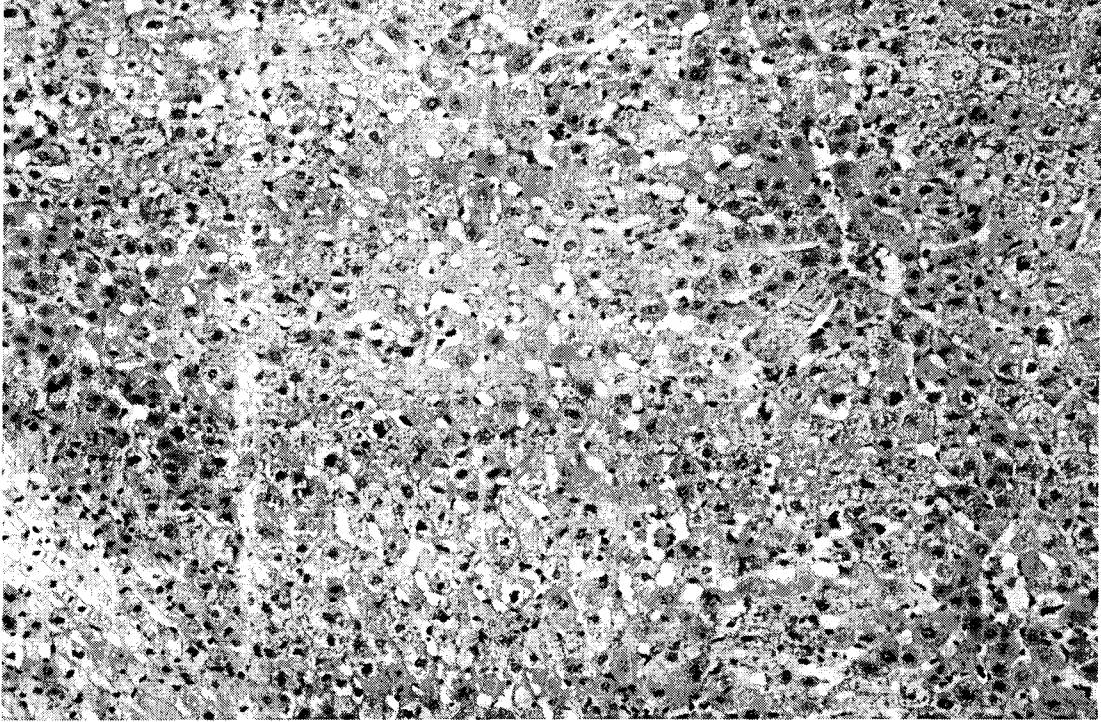
Şekil 4.11. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, safra kanalları oldukça genişlemiş, epitelleri ile birlikte lumene doğru parmakvari uzantılar oluşturacak şekilde hiperplazi şekillenmişti. Karaciğer, HxE., x200.



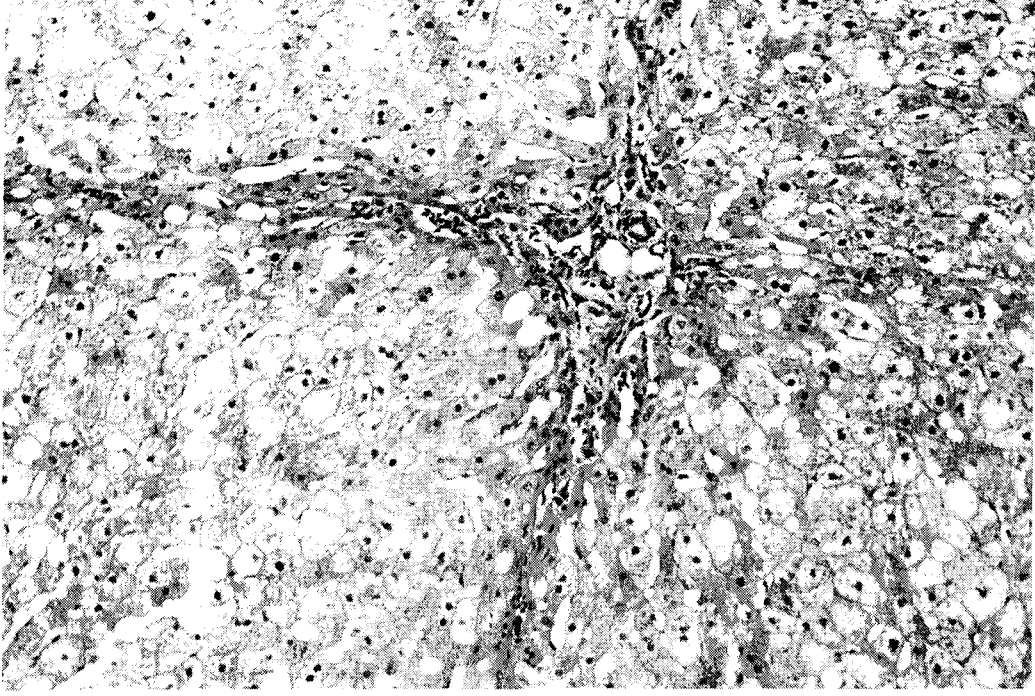
Şekil 4.12. Grup III'deki hayvanların karaciğer safra kanallarında hiperplazik yapıların yer yer birleşmesi sonucu lümeninde adenomatöz benzeri alanlar oluşmuştu. Karaciğer, HxE., x200.



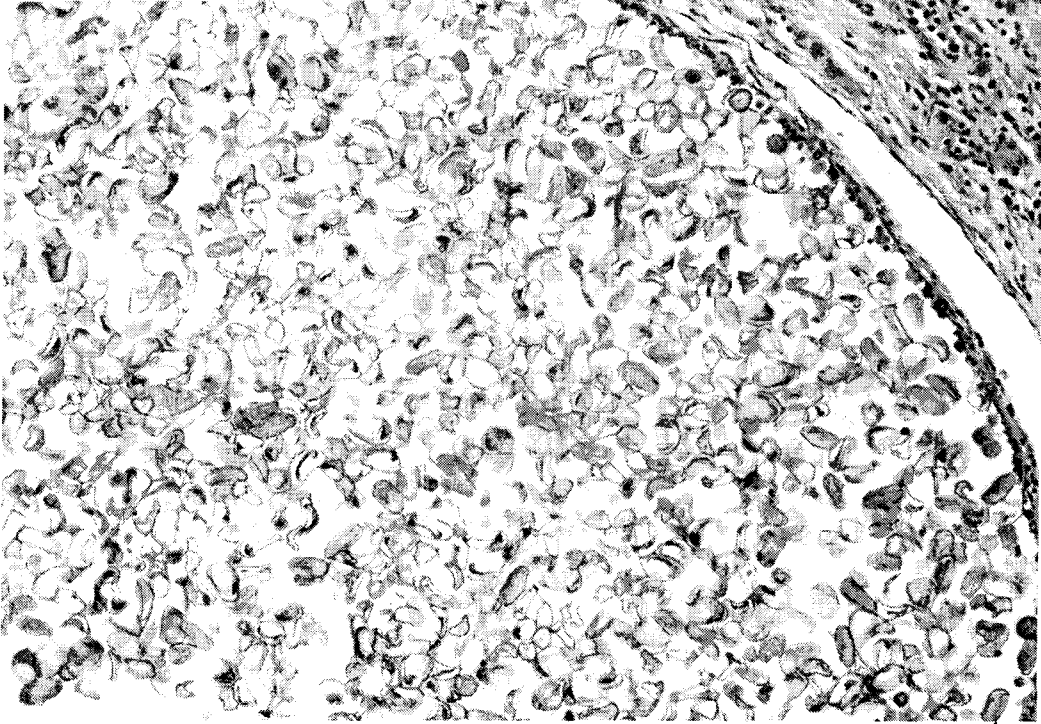
Şekil 4.13. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, safra kanalları periferinde bağ doku hücrelerinden fibrosit-fibroblastlar ile kollagen demetlerden oluşan fibröz doku ile çoğunluğu lenfositlerin oluşturduğu lenfoid hücre infiltrasyon odakları. Karaciğer, HxE., x200.



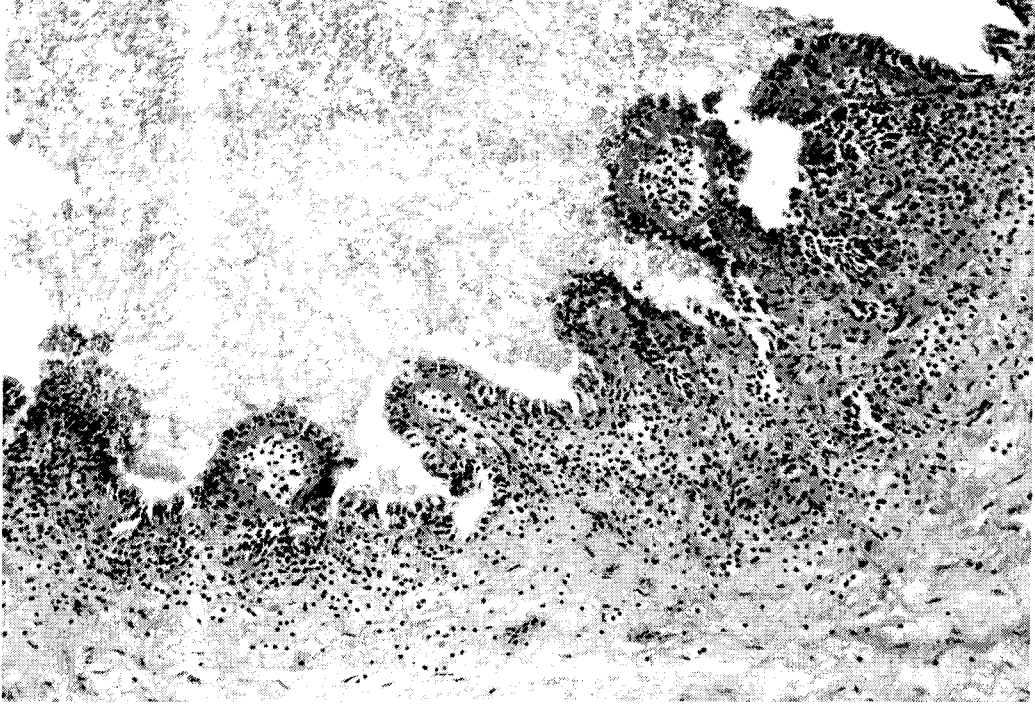
Şekil 4.14. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, safra kanallarına yakın hepatositlerden bazılarının sitoplazmaları içerisinde büyüklükleri farklı keskin kenarlı vakuollerin şekillendiği, vakuoler ve hidropik dejenerasyon. Karaciğer, HxE., x200.



Şekil 4.15. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, portal bölgeden parankime yayılan fibroz doku paransimi yer yer lobüllü bir yapıya döndürmüştü. Karaciğer, HxE., x200.



Şekil 4.16. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, bazı safra kanalları epitelleri dökülmüş, lumen tamamen dejenere oositler ile dolu idi. Karaciğer, HxE., x200.



Şekil 4.17. Grup III'deki hayvanların karaciğerinde, safra kanallarının dökülmüş epitellerinde rejeneratif ve hiperplazik değişikliklerin görünümü. Karaciğer, HxE., x200.

4.4. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Çalışmada elde edilen biyokimyasal parametrelere ait veriler Tablo 1'de verilmiştir. Bu tabloda görüldüğü gibi, çalışma öncesi tüm gruplara ait biyokimyasal parametrelerin normal sınırlar arasında olduğu ve gruplar arasında istatistiki önem olmadığı belirlenmiştir. Buna ilaveten, etken verilisinin 20. ve 30. günlerinde; serum ALP enzim aktivitesi, total protein ve albumin değerleri açısından gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Etken verilisinin 30. gününde sağlıklı kontrol grubu değerlerine göre saha suşu verilen grupta serum ALT ve AST enzim aktivitelerinde önemli olmayan hafif bir artış belirlenmesine rağmen, etken verilisinin hem 20. hem de 30. günlerinde; serum GGT, ALT ve AST enzim aktivitelerinde sağlıklı kontrol grubu ile saha suşu grubundaki tavşanlar arasında istatistiki

açından önemli bir fark bulunmamıştır. Buna karşın, etken inokulasyonunun 20. ve 30. günlerinde, sağlıklı kontrol grubundaki tavşanlara ait serum GGT, ALT ve AST enzim aktivitelerine göre standart saha suşu verilen gruptaki tavşanların enzim aktivitelerinde önemli bir artış ($p<0.05$) belirlenmiştir.

Tablo 4.1. Gruplara ait serum biyokimyasal parametreleri

Parametre	Period	Period 1(0.gün)	Period 2 (20.gün)	Period 3 (30.gün)
ALP	Grup 1	236,17±43,92	215,57±48,54	199,78±33,06
	Grup 2	237,88±37,69	225,01±49,65	195,00±57,69
	Grup 3	246,87±42,00	237,35±41,04	215,61±28,61
GGT	Grup 1	17,45±2,09	15,60±2,08 ^a	15,49±3,95 ^a
	Grup 2	17,36±3,30	18,70±4,31 ^a	15,19±3,06 ^a
	Grup 3	16,90±2,30	39,13±14,01 ^b	57,44±16,77 ^b
ALT	Grup 1	45,54±9,74	43,58±11,30 ^a	47,27±13,93 ^a
	Grup 2	43,15±12,78	45,78±20,52 ^a	74,79±10,09 ^a
	Grup 3	44,38±11,51	119,47±70,87 ^b	152,32±66,84 ^b
AST	Grup 1	36,74±7,41	33,43±9,66 ^a	36,36±9,70 ^a
	Grup 2	37,75±10,85	36,07±11,13 ^a	58,95±14,713 ^a
	Grup 3	37,45±7,53	122,56±65,69 ^b	162,09±77,45 ^b
ALBUMIN	Grup 1	3,30±0,34	3,11±0,32	3,01±0,36
	Grup 2	3,05±0,70	3,04±0,39	2,88±0,48
	Grup 3	3,43±0,23	2,80±0,31	2,69±0,24
T-PROTEIN	Grup 1	5,74±0,23	5,81±0,67	5,65±0,47 ^{ab}
	Grup 2	5,53±0,37	5,35±0,79	5,44±0,43 ^a
	Grup 3	5,65±0,29	5,88±0,50	6,00±0,49 ^b

* Grup I: Kontrol grubu, Grup II: Saha Suşu verilen grup, Grup III: Standart Suş verilen grup

^{a,b}. Aynı parametre için aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arası fark önemlidir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Karaciğer koksidiyozis'ine sebep olan *E. stiedai* tüm dünyada tavşanlarda görülen en yaygın türdür (1, 4, 5, 7, 9-11). Tavşanlarda enfeksiyon, sporlanmış oosistlerle bulaşmış yem ve suların oral yolla alınmasıyla başladığı bildirimleri göz önüne alınarak (1, 3, 5, 7), bu çalışmada hastalığın oluşturulmasında sporlanmış saha ve standart *E. stiedai* oositleri tavşanlara oral yolla sonda aracılığıyla direkt mideye inokule edilmiştir.

Çeşitli araştırmacıların bildirimleriyle (1, 2, 4, 5, 14-16) uyumlu olarak bu çalışmada da kontrol grubuna göre enfekte II ve III gruplarda bulunan tavşanlarda etken inokulasyonun 20. gününden itibaren gözlenen hafif durgunluk, mukoz membranlarda hafif sarılık, abdominal genişleme ve dışkıda saptanan *E. stiedai* oosist sayısı saha suşu ile enfekte tavşanlarda orta derecede, standart suş ile enfekte tavşanlarda daha şiddetli bir enfeksiyonun geliştiğini göstermektedir.

Hepatosellüler hasara bağlı olarak serum AST ve ALT (18), kolestazis'e bağlı olarak serum GGT aktivitelerindeki artış (14, 18) hepatik koksidiyozis'li tavşanlarda sık karşılaşılan bulgular olarak bildirilmektedir.

Çalışmada, Tablo 4.1'de görüldüğü gibi, çalışma öncesi tüm gruplara ait biyokimyasal parametrelerin normal sınırlar arasında olduğu ve gruplar arasında istatistiki önem bulunmadığı görülmüştür. Buna ilaveten, etken verililişinin 20. ve 30. günlerinde; serum ALP enzim aktivitesi, total protein ve albumin değerleri açısından gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Buradaki ALP'nin diğer araştırmacılarıdakinden (18) farklılık göstermesi saha suşu ile enfekte tavşanlarda karaciğer hasarının daha az olması ile açıklanmasına karşın, standart suş ile enfekte hayvanlarda diğer araştırmacılarıdan (18) farklı olarak artış göstermemiştir.

Etken verililişinin 30. gününde sağlıklı kontrol grubu değerlerine göre saha suşu verilen grupta serum ALT ve AST enzim aktivitelerinde önemli olmayan hafif bir artış belirlenmesine rağmen, etken verililişinin hem 20. hem de 30. günlerinde; serum GGT, ALT ve AST enzim aktivitelerinde sağlıklı kontrol grubu ile saha suşu grubundaki tavşanlar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Buna karşın, etken inokulasyonunun 20. ve 30. günlerinde, sağlıklı kontrol grubundaki tavşanlara ait serum GGT, ALT ve AST enzim aktivitelerine göre standart saha suşu verilen gruptaki tavşanların enzim aktivitelerinde önemli bir artış ($p<0.05$) belirlenmiştir. Bu da diğer çalışmalardaki (15, 18, 19) değerler ile örtüşmektedir. Nitekim bu gruptaki tavşanların karaciğerlerinde belirlenen histopatolojik lezyonların şiddeti önceki raporlarla uyum içindedir (1, 2, 4, 7).

Bu çalışmada sağlıklı kontrole göre enfekte hayvanlarda albumin değerinde saptanan düşme etkene bağlı olarak karaciğerde meydana gelen dejenerasyondan dolayı albuminin üretiminin azalmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (20, 21).

Çalışma da, gruplar arasında albümin değerinde istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamış olup, özellikle II. gruptaki hayvanlarda enfeksiyonun hafif seyretmesi ve karaciğerde dejenerasyonun şiddetli olmaması bunun nedeni olarak düşünülmüştür. Grup III.'deki tavşanlarda ise yine albümin değerlerinde herhangi bir değişikliğin olmaması diğer araştırmacıların (20, 21) bildirdiğinden farklı bir sonuç ortaya çıkarmaktadır.

Eimeria stiedai'ye bağlı enfeksiyondan ölmüş hayvanların post-mortem muayenesinde, karaciğerin önemli ölçüde büyüdüğü ve üzerinde çok sayıda grimsi beyaz, birbirleriyle birleşen nodüllerin varlığı dikkat çekmektedir. Enfeksiyonun şiddetine göre lezyonlar değişiklik göstermektedir. Hafif enfeksiyonlarda karaciğer nodülleri toplu iğne başından daha büyük değildir. Ağır enfeksiyonlarda ise karaciğer vücut ağırlığının %20'sinden daha fazla olabilir ve yüzeyi birleşen grimsi beyaz ve sarımsı nodüller arasından güçlükle görülebilmektedir (1, 2, 4, 7).

Çalışmamızda, saha ve standart suş ile enfekte tavşanlarda diğer araştırmacıların bildirdiği (1, 2, 4, 7) enfeksiyon şiddeti ile uyumlu makroskopik bulgular ortaya çıkmıştır. Özellikle saha suşu ile ortaya çıkan makroskopi hafif enfeksiyonlar ile, standart suş ile ortaya çıkan makroskopi ise ağır enfeksiyonlar ile uyumlu idi. Düşüncemiz saha suşunun çok patojen olması için gerekli bazı faktörler yanında çok sayıda hayvan pasajı ile uyumlu olarak bunun gerçekleşebileceği sonucuna bizi götürmüştür.

Ölmüş tavşanlardan alınan doku örneklerinde *Eimeria stidae* intrahepatik safra epitellerini etkiler. Bilier epitelin tahribatı lezyonların temelini oluşturur. Hastalık seyri uzun olan hayvanlarda ise epitel hücre proliferasyonu en belirgin özellik olmaktadır. Epitel hücre proliferasyonu nedeni ile safra kanalları genişler, adenomatöz hiperplaziye benzeyen papiller kıvrımlar şekillenir. Fazla sayıda şekillenen gametosit ve oosistler safra kanallarını tıkanmasına neden olmaktadır. Bu sahalarda yangısal reaksiyon ve dev hücrelerinin şekillenmesi belirgindir.

Safra kanallarının bu oldukça genişlemiş segmenti, komşu karaciğer parankimi yerini alır ve makroskopik olarak gayri muntazam şekilli gri renkli sahalar şeklinde görülür. Bunlar kapsüldende çökük odaklar tarzında görülürler. Şiddetli enfeksiyonlarda karaciğerdeki ağır harabiyetten dolayı fonksiyonel bozukluklar meydana gelir (1, 2, 4, 7, 8).

Çalışmamızda, saha ve standart suş ile enfekte tavşanlarda diğer araştırmacıların bildirdiği (1, 2, 4, 7) enfeksiyon şiddeti ile uyumlu mikroskopik bulgular ortaya çıkmıştır. Özellikle saha suşu ile etkilenen bölgelerdeki histolojik bulgular lokalize iken, standart suş ile ilgili olanlar diffuza yakın olarak daha geniş alanlara yayılmıştı. Etkilenen bölgeler dışında karaciğer parankiminde de dejeneratiften nekrotiğe kadar varan değişiklikler enfeksiyonun şiddeti ile uyumlu bir görünümdeydi.

Sonuç olarak, bu çalışmada tavşanlarda *E. stiedai*'nin saha ve standart suşu ile oluşturulan karaciğer koksidiyozis'inde bazı klinik, biyokimyasal ve patolojik değişikliklerin oluşan enfeksiyonun şiddeti ile farklılık gösterebileceği belirlenmiştir. Bu deneysel enfeksiyon saha ve standart suşun birlikte kullanıldığı ve bazı klinik, biyokimyasal ve patolojik değişikliklerin ortaya konulduğu ve karşılaştırıldığı ilk çalışmadır.

6. KAYNAKLAR

1. Dinçer Ş. Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 17. META Basım, Bornova-İzmir, Eylül, 2001: pp.269-278.
2. Eckert J, Kutzer E, Rommel M, et all Veterinarmedizinische Parasitologie, Verlag Paul Parey, Berlin, 1992: pp. 905.
3. Levine ND. Veterinary Protozoology. Iowa State University Pres, Ames, Iowa, USA, 1985: pp. 343-347.
4. Mimioğlu M, Göksu G, Sayın F. Veteriner ve Tıbbi Protozooloji. A Ü Vet Fak Yay: 248, Ders Kitabı: A Ü Basımevi. 1969: pp. 1313.
5. Soulsby E.J.L. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. Seventh Edition, Bailliere-Tindall, London, 1986: pp. 809.
6. Bhat TK, Jithendran KP, Kurade NP. Rabbit coccidiosis and its control: a review. World Rabbit Science 1996; (32) 37-41.
7. Pellérdy LP. Coccidia and Coccidiosis. 2nd Ed., Verlag Paul Parey, Budapest, 1974: pp. 959.

19. Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspect of haematology. In: Tiez NW Ed: Fundamentals of Clinical Chemistry, 3 th Ed. WB Saunders, Philadelphia. 1987; pp. 803-804.
20. Abdel-Ghaffar F, Marzouk M, Ashour MB, et al. Effects of *Eimeria labbeana* and *E. stiedai* infection on the activity of some enzymes in the serum and liver of their hosts. Parasitol Res 1990; 76(5): 440-43.
21. Gomez-Bautista M, Garcia MV, Rojo-Vazquez FA. The levels of total protein fractions in the serum of rabbits infected with *Eimeria stiedai*. Ann Parasitol Hum Comp 1986; 61(4):393-400.
22. Long PL, Millard BJ, Joyner LP, et al A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. Folia Vet Lat 1976; 6: 201-217.

6. KAYNAKLAR

1. Dinçer Ş. Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No: 17. META Basım, Bornova-İzmir, Eylül, 2001: pp.269-278.
2. Eckert J, Kutzer E, Rommel M, et all Veterinarmedizinische Parasitologie, Verlag Paul Parey, Berlin, 1992: pp. 905.
3. Levine ND. Veterinary Protozoology. Iowa State University Pres, Ames, Iowa, USA, 1985: pp. 343-347.
4. Mimioglu M, Göksu G, Sayın F. Veteriner ve Tıbbi Protozoloji. A Ü Vet Fak Yay: 248, Ders Kitabı: A Ü Basımevi. 1969: pp. 1313.
5. Soulsby E.J.L. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. Seventh Edition, Bailliere-Tindall, London, 1986: pp. 809.
6. Bhat TK, Jithendran KP, Kurade NP. Rabbit coccidiosis and its control: a review. World Rabbit Science 1996; (32) 37-41.
7. Pellérdy LP. Coccidia and Coccidiosis. 2nd Ed., Verlag Paul Parey, Budapest, 1974: pp. 959.

8. Polozowski A. Coccidiosis of rabbits and its control. *Wiad Parasitol* 1993; 39(1): 13-28.
9. Levine ND, Ivens V. *Coccidia of the Leporidae*. *J Protozool* 1972; 19(4): 572-581.
10. Merdivenci A. Türkiye’de evcil ve yabani tavşanlarda *Eimeria* enfeksiyonları. *Türk Biol Derg* 1963; 12(1): 26-35.
11. Peeters JE, Geeroms R, Halen P. Evolution of coccidial infection in commercial and domestic rabbits between 1982 and 1986. *Vet Parasitol* 1988; 29(4): 327-331.
12. Dürr U, Pellérdy Z. The susceptibility of suckling rabbits to infection with coccidia. *Acta Veterinaria Academia Scientiarum Hungaricae* 1969; 19(4): 453-462.
13. Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Körting W, et al. *Veterinärmedizinische Parasitologie*, Parey Buchverlag, Berlin, 2000: pp. 287-290.
14. Joyner LP, Catchpole J, Berrett S. *Eimeria stiedai* in rabbits. The demonstration of responses to chemotherapy. *Res Vet Sci* 1983; 34: 64-67.
15. Peeters JE, Geeroms R. Efficacy of tolutrazuril against intestinal and hepatic coccidiosis in rabbits. *Vet Parasitol* 1986; 22: 21-35.
16. San Martin-Nuñez BV, Ordoñez-Escudero D, Alunda JM. Preventive treatment of rabbit coccidiosis with α -difluoromethylornithine. *Vet Parasitol* 1988; 30:1-10.
17. Arafa MA, Wanas MQ. The efficacy of ivermectin in treating rabbits experimentally infected with *Eimeria* as indicated parasitologically and histologically. *J Egpt Soc Parasitol* 1996; 26(3): 373-380.
18. Hein B, Lammler G. Alteration of enzyme activities in serum of *Eimeria stiedai* infected rabbits. *Z Parasitenkd* 1978; 57(3): 199-211.

19. Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspect of haematology. In: Tiez NW Ed: Fundamentals of Clinical Chemistry, 3 th Ed. WB Saunders, Philadelphia. 1987; pp. 803-804.
20. Abdel-Ghaffar F, Marzouk M, Ashour MB, et al. Effects of *Eimeria labbeana* and *E. stiedai* infection on the activity of some enzymes in the serum and liver of their hosts. Parasitol Res 1990; 76(5): 440-43.
21. Gomez-Bautista M, Garcia MV, Rojo-Vazquez FA. The levels of total protein fractions in the serum of rabbits infected with *Eimeria stiedai*. Ann Parasitol Hum Comp 1986; 61(4):393-400.
22. Long PL, Millard BJ, Joyner LP, et al A guide to laboratory techniques used in the study and diagnosis of avian coccidiosis. Folia Vet Lat 1976; 6: 201-217.

ÖZGEÇMİŞ

20.06.1979 tarihinde Bünyan ilçesi Karadayı Köyünde dünyaya geldi. İlk öğrenimini köyünde tamamladı.Orta öğretimini Bünyan İlçesi Elbaşı Köyünde bitirdi.Lise öğrenimine Kayseri Melikgazi İlçesi Melikgazi Süper Lisesinde devam etti.1997 yılında bu okuldan mezun oldu.1998 yılında Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandı.Bu fakülteedeki öğrenimini 2003 yılında tamamlayarak aynı yıl Veteriner Patoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2008 yılında Tavşanlarda farklı Eimeria stredai suşları ile oluşturulan deneysel karaciğer koksidiyozunda patolojik ve biyokimyasal bulguların karşılaştırılması tezini tamamlayarak enstitüye teslim etti.Şuan Felahiye İlçe Tarım Müdürlüğünde memur olarak çalışmaktadır.

İletişim bilgileri

Adres : Felahiye ilçe tarım müdürlüğü/KAYSERİ

Telefon: 05355599278

E-mail: gokhanseyfi@hotmail.com