

Kanatlı Coccidiosisine Karşı Oocystlerin İrradiye Edilmesi Esasına Dayalı Aşı Üretimi III- *Eimeria spp.* ve *Eimeria maxima* ile Enfekte Edilen Cıvcivlerde Oocystlerin Atılım Karakteristiği ^[1]

Sırrı KAR * Zafer KARAER **  Esin GÜVEN ** Serpil NALBANTOĞLU **
Ayşe ÇAKMAK ** Kemal EKDAL ** Asiye KOÇAK **

[1] Bu çalışma TOVAG 105 O 451 proje numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

* Namık Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, 59000, Tekirdağ - TÜRKİYE

** Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı, Ankara - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2009-484

Özet

Çalışmada, kanatlı coccidiosisine neden olan *Eimeria* türlerinin farklı yoğunluktaki enfeksiyonlarda gösterdiği atılım karakteristiklerini ortaya koymak amacıyla, her birinde 14 günlük 14 civciv bulunan 8 grup sırasıyla 25 bin, 50 bin, 100 bin, 200 bin, 350 bin, 500 bin, 750 bin ve 1 milyon ookist ile enfekte edilmiştir. Kontrol grup olarak ayrılan 9. grup ise enfekte edilmemiştir. Sahadan elde edilmiş olan ve farklı *Eimeria* türlerini barındıran inokulum ile gerçekleştirilen enfeksiyonu takiben, günlük olarak civcivlerin dışkıları modifiye McMaster yöntemi ile ookist yoğunluğu yönünden irdelenmiştir. Numunelerdeki *E. maxima*'nın oransal yoğunluğu, morfolojik kriterler esas alınarak belirlenmiş ve aynı oransal değer üzerinden sayısal yoğunlukları hesaplanmıştır. Hayvanların takibine enfeksiyonun 30. gününde son verilmiştir. Elde edilen veriler, saha koşullarına benzer ortamlarda barındırılan ve farklı dozlarda karışık oocyst ile enfekte edilen civcivlerde, *Eimeria spp* ve *E. maxima* oocyst atılım seyrinin belli derecede enfeksiyon dozu ile ilişkili olduğunu, dönem boyunca atılan oocyst miktarının ise, gram dışkı üzerinden ele alındığında, doz ile doğrusal bir ilişkiye sahip olmadığını göstermiştir.

Anahtar sözcükler: *Civciv*, *Eimeria spp*, *E. maxima*, *Oocyst*

Vaccine Production Based on Oocyst Irradiation at Broiler Coccidiosis III- Characteristics of Oocyst Shedding in Birds Infected with *Eimeria spp.* and *Eimeria maxima*

Summary

The aim of this study was to expose shedding characteristics of different *Eimeria spp* cause coccidiosis. For this purpose, 8 groups of 14 days-old 14 birds were infected respectively with 25×10^3 , 50×10^3 , 100×10^3 , 200×10^3 , 350×10^3 , 500×10^3 , 750×10^3 and 1000×10^3 *Eimeria spp* oocysts and 9th group was determined as control. The infection carried out with the inoculum consist of different field based *Eimeria spp* Following the infection faecal samples were taken and examined by using the modified McMaster method in terms of oocyst density. Proportional density of *E. maxima* in stool samples determined base on morphological criterions and quantitative densities also calculated by using same proportional density. The data of our study showed that *Eimeria spp* and *E. maxima* dropping progress was related with infection dose to a certain extent and discarded oocyst amount during the period was not have a linear relationship with the infection dose.

Keywords: *Chick*, *Eimeria spp*, *E. maxima*, *Oocyst*

GİRİŞ

Kanatlılarda direkt ölüme, yemden yararlanmada ve canlı ağırlık artışında gerilemeye yol açabilen coccidiosis, dünya genelinde kanatlıların en önemli hastalıklarından

birisi olarak kabul edilmektedir ^{1,2}. Tavuklarda görülen coccidiosis olgularında sıklıkla karşılaşılan 9 *Eimeria* türü bildirilmiştir. Bunlar *Eimeria tenella*, *E. necatrix*, *E.*



İletişim (Correspondence)



+90 312 3170315



zafer.karaer@veterinary.ankara.edu.tr

acervulina, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. mivati*, *E. praecox* ve *E. hagai*' dir ki doğal enfeksiyonlarda genellikle bu türlerin birçoğu birlikte görülmektedir ^{3,4}.

Monoksen bir biyolojiye sahip olan *Eimeria* türlerinde bulaşma, bağırsak mukozasında üredikten sonra dışkı ile atılan ve uygun koşullarda belli sürede sporlanan oocystlerin, bulaşık gıdalar aracılığıyla oral olarak alınması sonucunda gerçekleşmektedir. Enfekte hayvanlarda oocyst atılımı, türe göre de değişmekle birlikte astronomik rakamlara ulaşabilmekte, tek bir oocystin alınımı bile binlerce oocyst üretimi ile sonuçlanabilmektedir ⁵. Özellikle genç hayvanlarda etkili olan coccidiosise karşı konakta zamanla bağışıklık gelişmekte ve dolayısıyla da oocyst atılımı azalmaktadır. Adı geçen bağışıklık mekanizması ile ilgili olarak yapılan çalışmalar, her bir türün bağışıklığı uyarma gücünün farklı olduğunu ve gelişen bağışıklığın tür spesifik bir özellik taşıdığını göstermiştir ⁶. Diğer taraftan, tek bir türün farklı suşları arasında önemli düzeyde çapraz bağışıklığın olduğu, ancak *E. maxima* ve *E. acervulina* için bu kuralın geçerli olmadığı da kaydedilmiştir ^{7,8}. Bundan dolayı, etlik piliç anaçları gibi, enfeksiyonun yerleşik olduğu çevrelerde uzun süre yetiştirilen hayvanlarda, *E. maxima*'nın farklı antijenik suşlarından köken alan enfeksiyonların ağır hasara neden olabileceği bildirilmiştir ⁶.

Coccidiosiste şekillenen söz konusu karmaşık immunitenin, belli bir eşiğin üzerindeki enfeksiyonlarda şekillenen ve enfeksiyon dozu ile atılan oocyst sayısı arasındaki ters orantıyla karakterize olan "kalabalık etkisi"nin de en önemli nedeni olduğu kaydedilmiştir ^{5,9}. Konu ile ilgili çalışmalardan elde edilen veriler ^{10,11} durumun tahmin edilenden daha karmaşık bir mekanizmasının olabileceğini de göstermiştir.

Yapılan bu çalışmada, civcivler sahadan elde edilmiş olan ve farklı sayılarda oocyst içeren inokulumlarla, saha koşullarına benzer bir ortamda enfekte edilmiş ve takip eden dönemde şekillenen *E. maxima* ve diğer oocystlerin atılımı izlenmiş, böylelikle adı geçen oocyst gruplarının atılım karakteri ve söz konusu karakterin enfeksiyon dozu ile olan ilişkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Deney hayvanları ve bakımları

Çalışmada, ilk günden itibaren rutin yetiştiricilik koşullarına uygun ısı ve ışık düzenekli laboratuvarlarda bakılan, herhangi bir ilaç veya kimyasal içermeyen ad libitum yem ve su sistemi ile beslenen 126 broyler civciv (Ross) kullanılmıştır. Çalışma süresince civcivlerin bakım, besleme ve altlık düzenleri, ticari broyler kümeslerinin sahip olduğu koşullara uygun olacak şekilde ayarlanmıştır.

İnokulumun hazırlanması

Grubumuz tarafından, Türkiye genelindeki broyler yetiştiriciliğinde coccidiosisin durumunu belirlemek üzere gerçekleştirilen proje (TUBİTAK, No:105 O 451) kapsamında, değişik bölgelerdeki kümeslerden toplanan, farklı yaş gruplarına ait 250 pozitif dışkı örneği temel oocyst kaynağı olarak kullanılmıştır. Toplanan numunelerin karıştırılması ile elde edilen total inokulum öncelikle 14 günlük civcivlerde pasajlanmıştır. Enfeksiyonu takiben, 44 günlük oluncaya kadar civcivlerin dışkıları düzenli olarak toplanmış, günlük olarak işleme tabi tutulan örneklerden elde edilen oocystler direkt olarak sporlandırmaya alınmış ve %80-85 sporlanma oranına ulaştıklarında +4°C'de muhafaza altına alınmışlardır. Dönem sonunda, oocyst görülen bütün numuneler karıştırılarak total inokulum hazırlanmıştır. Böylelikle, bir yetiştirme dönemi boyunca atılan bütün oocyst tiplerini kapsayan total bir inokulumun oluşturulması hedeflenmiştir. Toplanan numunelerin muhafaza süreleri, oocystlerin canlı ve yeni kalmalarını sağlamak amacıyla mümkün olduğunca kısa tutulmuş, son oocystlerin toplanmasından yaklaşık 3 hafta sonra deneysel enfeksiyon aşamasına geçilmiştir.

İnokulumda bulunan oocyst perspektifinin belirlenmesi

İnokulumda bulunan oocyst tiplerinin belirlenmesinde, sporlanmış oocystlerde yürütülen mikroskopik incelemelerden ve ilk deneysel enfeksiyonun ardından, hem ölen civcivlerde hem de haftada bir rastgele seçilen civcivlerde gerçekleştirilen nekropsi bulgularından yararlanılmıştır ^{3,12-15}.

Civcivlerin enfekte edilmesi

Denekler, enfeksiyondan bir gün önce, bütün gruplarda ağırlık yönünden denk 14 civciv olacak şekilde 9 gruba ayrılmış ve kendi özel bölmelerine alınmışlardır. Enfeksiyonu gerçekleştirilme şeklinin belirlenmesinde, inokulumun tür perspektifi, coccidiosisin genel immunopatolojik karakteristiği ve daha önce yapılmış benzer çalışmalar ^{3,6,16} dikkate alınmıştır. Hazırlanan gruplardaki 14 günlük civcivlerden her birine sırayla 25×10^3 , 50×10^3 , 100×10^3 , 200×10^3 , 350×10^3 , 500×10^3 , 750×10^3 ve 1000×10^3 oocyst (sporlanmış), negatif kontrol olarak ayrılan bir gruba ise sadece distile su verilmiştir. Söz konusu dozların belirlenmesinde, daha önce saha suşları ile yapılmış olan çalışmaların ¹⁶, minimal enfektif doz ve letal doz 50 değerlerinden yararlanılmıştır. Hazırlanan inokulumlar civcivlere enjektör ucuna takılan plastik bir sonda yardımı ile toplamda 1 ml sıvı olacak şekilde ve direkt olarak kursağa verilmiştir ¹⁷. İnokulum verilmeden önce, sporozoitlerin bağırsak epiteline girişlerini kolaylaştırmak amacıyla ¹⁸ civcivler birkaç saat aç bırakılmışlardır.

Oocyst atılımının takibi

Enfeksiyonu takiben, genelde uygulanan en uzun broyler yetiştirme süresi de dikkate alınarak civcivler 44 günlük oluncaya kadar oocyst atımı yönünden takip edilmişlerdir. Her bir gruptan mümkün olduğunca fazla miktarda taze dışkı (en az 100 gr) günlük olarak toplanmıştır. Dışkılar, bütün gruplardan günün belli saatlerinde eşzamanlı olarak alınmıştır. Böylelikle, gün içi oocyst atılımı dalgalanmalarına ^{3,13} bağlı gruplar arası dengesizliğin önüne geçilmeye çalışılmıştır. Her bir gruptan toplanan günlük dışkılar kendi aralarında homojenize edilmiş ve alınan 4 gr örnek modifiye McMaster yöntemi ile incelenerek ¹⁹ gram dışkıdaki oocyst sayıları hesaplanmıştır. Daha sonra dışkıda bulunan oocystler arındırılmış ve sporlanmaya alınmıştır. Arkasından da söz konusu sporlandırılmış oocystler üzerinden tür tayinleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaç için, alınan örnekler Sheather'in doymuş şekerli su çözeltisiyle yüzdürme yöntemi kullanılarak mikroskop altında incelenmişlerdir ¹⁶. Örneklerdeki *E. maxima* yoğunluğunu belirlemek üzere en az 100 oocyst sayılmıştır. Elde edilen oransal yoğunluk değeri kullanılarak, gram dışkıdaki *Eimeria* spp verileri üzerinden, her bir numunenin bir gramında bulunan *E. maxima* sayısı hesaplanmıştır.

BULGULAR

İnokulumun oocyst perspektifi

İnokulumdaki oocystlerin uzunluk ölçülerini baz alarak yapmış olduğumuz gruplandırma ¹⁵ hem küçük ($\leq 18.8 \mu\text{m}$; *E. acervulina*, *E. mitis*), hem orta ($18.9-23.8 \mu\text{m}$; *E. necatrix*, *E. tenella*, *E. praecox*) hem de büyük (≥ 23.9 ; *E. brunetti*, *E. maxima*) tip oocystlere rastlanmıştır. Genel morfolojik verilere göre de oransal olarak sırasıyla *E. tenella*, *E. necatrix* ve *E. mitis* benzeri oocystlerin en fazla, *E. mivati*, *E. maxima*, *E. acervulina* ve *E. brunetti* benzeri oocystlerin ise daha az oranda bulunduğu anlaşılmıştır. Morfolojik kriterlerinden dolayı kolaylıkla belirlenebilen *E. maxima*'nın ilk inokulumdaki yoğunluğunun %5.0 olduğu görülmüştür.

Klinik bulgular

Enfekte edilen civcivlerde, özellikle 50 binlik ve üzeri gruplarda doz ile belirginleşen genel durum bozukluğu, kanlı ishal gibi coccidiosis için tipik bulgular gözlemlenmiştir. Ölüm olgularıyla da 200 binlik ve üzeri gruplarda, enfeksiyonun 3-6. günleri arasında karşılaşılmıştır.

Oocyst atılımı

Bütün gruplarda ilk oocyst atılımı enfeksiyonun 4. gününde, *E. maxima* atılımı ise 6. günde başlamış ve 30. güne kadar değişen oranlarda da olsa devam etmiştir. Gram dışkıda en yüksek oocyst atılımına (2.040.000/gr) enfeksiyonun 7. gününde 750 binlik grupta rastlanmıştır. Gram dışkı üzerinden, 30 gün boyunca atılan toplam oocyst sayısı üzerinden en yüksek değere (4.244.000) de yine 750 binlik grupta ulaşılmıştır. Gram dışkıdaki total oocyst içerisinde en yüksek *E. maxima* oranına %55 (41.800/gr) ile yine 750 binlik grupta enfeksiyonun 12. gününde, en yüksek sayıya (65.520/gr; %18) ise 100 binlik grubun 6. gününde rastlanmıştır. Enfeksiyonun 30. gününe kadar, her bir grup için gram dışkıda sayılan günlük ve toplam *Eimeria* spp ve *E. maxima* sayıları ile toplam oocyst içerisindeki *E. maxima* oranları *Tablo 1*'de verilmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Monoksen bir biyolojiye sahip olan tavuk coccidiosis etkenlerinde prepatent sürenin, türe göre de değişmekle birlikte 2.5-7 gün, patent sürenin ise 4-19 gün arasında değiştiği bildirilmiştir ^{3,11,20}. Yapmış olduğumuz çalışmada, oocyst atılımı bütün gruplarda enfeksiyonun 4. gününde başlamıştır. Gram dışkıdaki oocyst yoğunluğu ise ya direkt yüksek başlamış veya bir iki gün içerisinde yükselmiştir. 500 bin ve altı dozlarda 12. güne doğru yoğunluk azalmış, 17.-19. günlerde ilk dönem kadar olmasa da bir yükselme dönemi görülmüş ve en son 28. gün civarında da kısa ve önemsiz bir artış tekrarlanmıştır. 750 binlik ve 1 milyonluk gruplarda ise ilk dönem kendini gösteren yoğun oocyst atılımı zamanla azalmış ve 24.-25. günler civarında görülen kısmi bir yükselme haricinde belirgin bir dalgalanma dikkati çekmemiştir.

Civcivlerde yaşamın ilk haftalarında şekillenen enfeksiyonun bağışıklığı sağladığı, söz konusu bu bağışıklığın ise tür spesifik olduğu bildirilmiştir ^{7,8}. Bu duruma paralel olarak da, ilk enfeksiyonu takiben oluşan oocyst atılımının, belirli bir zaman diliminde gerçekleştiği, bu süreç dahilinde dışkıdaki oocyst yoğunluğunun belli bir zamanda en yüksek düzeye ulaştığı ve takip eden dönemde de azalarak sonlandığı ²⁴ veya eser miktarlara gerileyerek devam ettiği kaydedilmiştir ^{5,21}. Ancak, kontrollü enfeksiyon deneylerinden elde edilmiş olan literatür bilgilerinin aksine, enfekte etmiş olduğumuz bütün gruplarda oocyst atılımı düzenli bir seyir izlememiş, belli bir dalgalanma göstermiştir. Çalışmadan elde edilen söz konusu dalgalı atılım seyri iki olasılık çerçevesinde nedenselleştirilebilmiştir. Bunlardan biri, civcivlerin altlıktan sporlanmamış oocyst almaları ve dolayısıyla da dışkı ile direkt geri çıkarmalarıdır ki bu olasılık, oocyst atılımının düzenli olarak azalmak yerine dalgalanmalar göstermesinden ötürü pek olası görünmemektedir. Kaldı ki, akut dönemde en üst seviyeye ulaşan altlıktaki oocyst yoğunluğunun zamanla düzenli olarak azaldığı bilinmektedir ⁶ ve böylesi bir durumda adı geçen dalgalı seyir pek mümkün görünmemektedir. Çalışmadan elde edilmiş olan atılım seyrinin olası ikinci nedeni ise, altlıktan alınan sporlanmış oocystlere bağlı enfeksiyonun 7. gününde 750 binlik grupta rastlanmıştır. Gram dışkı üzerinden, 30 gün boyunca atılan toplam oocyst sayısı üzerinden en yüksek değere (4.244.000) de yine 750 binlik grupta ulaşılmıştır. Gram dışkıdaki total oocyst içerisinde en yüksek *E. maxima* oranına %55 (41.800/gr) ile yine 750 binlik grupta enfeksiyonun 12. gününde, en yüksek sayıya (65.520/gr; %18) ise 100 binlik grubun 6. gününde rastlanmıştır. Enfeksiyonun 30. gününe kadar, her bir grup için gram dışkıda sayılan günlük ve toplam *Eimeria* spp ve *E. maxima* sayıları ile toplam oocyst içerisindeki *E. maxima* oranları *Tablo 1*'de verilmiştir.

Tablo 1. Enfeksiyonun 30. gününe kadar, her bir grup için gram dışıda sayılan toplam *Eimeria* spp ve *E. maxima* sayıları
Table 1. Total *Eimeria* spp and *E. maxima* numbers in gram of feces for each group up to 30th day of the infection

Günler	25.000		50.000		100.000		200.000		350.000		500.000		750.000		1.000.000	
	<i>E. max</i>	<i>Eimeria spp</i>	<i>E. max</i>	<i>Eimeria spp</i>	<i>E. max</i>	<i>Eimeria spp</i>	<i>E. max</i>	<i>Eimeria spp</i>	<i>E. max</i>	<i>Eimeria spp</i>	<i>E. max</i>	<i>Eimeria spp</i>	<i>E. max</i>	<i>Eimeria spp</i>	<i>E. max</i>	<i>Eimeria spp</i>
4	0	590.000	0	435.000	0	242.000	0	252.000	0	295.000	0	133.000	0	100.000	0	105.000
5	0	520.000	0	1.172.000	0	480.000	0	424.000	0	136.000	0	852.000	0	472.000	0	560.000
6	45.600	240.000	39.600	220.000	65.520	364.000	18.600	372.000	64.320	804.000	39.600	440.000	5.120	512.000	38.400	768.000
7	34.400	688.000	8.400	280.000	14.240	712.000	8.280	828.000	9.920	992.000	6.120	612.000	0	2.040.000	8.880	888.000
8	10.000	336.000	3280	328.000	3.400	340.000	0	108.000	3.080	308.000	0	192.000	0	216.000	4.800	480.000
9	3.560	356.000	0	188.000	2.560	256.000	1.520	152.000	1.960	196.000	2.280	228.000	2.840	284.000	3.520	352.000
10	2.640	88.000	3.960	132.000	11.160	124.000	1.760	88.000	5.760	576.000	1.280	64.000	13.440	192.000	0	104.000
11	2.800	56.000	6.400	640.000	9.720	108.000	0	256.000	22.440	132.000	1.520	76.000	29.640	156.000	3.680	184.000
12	800	40.000	4.800	32.000	4.080	24.000	3.000	20.000	1.320	44.000	8.800	40.000	41.800	76.000	3.800	20.000
13	960	24.000	1.000	20.000	480	24.000	1.600	32.000	1.280	16.000	9.920	124.000	16.640	32.000	9.200	20.000
14	960	24.000	640	32.000	0	80.000	2.280	76.000	840	28.000	7.200	40.000	4.920	12.000	2.160	24.000
15	1.920	48.000	1.720	172.000	3840	384.000	21.600	120.000	2.880	288.000	0	56.000	1.280	16.000	1.920	24.000
16	3.680	92.000	1.960	196.000	320	16.000	0	100.000	1.520	152.000	0	196.000	0	40.000	0	28.000
17	2.280	12.000	1.040	52.000	320	16.000	280	4.000	560	28.000	120	12.000	560	8.000	120	4.000
18	5.760	36.000	4.480	28.000	1.560	12.000	1.440	24.000	5.760	72.000	400	20.000	160	4.000	0	8.000
19	16.800	56.000	2.880	32.000	2.080	16.000	720	8.000	2.560	16.000	960	8.000	2.560	8.000	160	8.000
20	10.320	24.000	600	4.000	3.120	12.000	240	8.000	2.880	36.000	2.240	28.000	680	4.000	101	10.100
21	1.920	8.000	1.680	56.000	5.880	28.000	960	24.000	960	12.000	220	2.000	160	8.000	960	16.000
22	3.200	20.000	160	4.000	80	4.000	360	4.000	320	4.000	240	2.000	120	4.000	640	4.000
23	720	8.000	200	4.000	40	4.000	440	4.000	240	4.000	240	4.000	0	4.000	240	800
24	640	16.000	80	8.000	640	32.000	200	20.000	400	20.000	240	24.000	0	16.000	1.800	12.000
25	160	16.000	160	8.000	360	12.000	0	24.000	360	12.000	60	6.000	360	12.000	80	4.000
26	80	4.000	0	20.000	0	12.000	0	8.000	120	12.000	120	12.000	0	16.000	120	4.000
27	40	4.000	0	4.000	0	3.200	40	4.000	96	4.800	32	3.200	128	3.200	32	3.200
28	2.160	10.800	12	1.200	0	2.400	20	2.000	0	6.000	132	1.200	64	1.600	60	1.200
29	160	3.200	40	4.000	0	3.600	0	1.600	0	8.000	32	1.600	80	400	64	1.600
30	144	3.600	44	4.400	80	8.000	132	4.400	0	3.200	0	5.200	0	6.800	40	400
Toplam	106.104	3.323.600	83.136	4.076.600	129.480	3.319.200	63.472	2.968.000	129.556	4.205.000	81.756	3.182.200	120.552	4.244.000	80.777	3.634.300
Oran *	%3.19		%2.04		%3.90		%2.14		%3.08		%2.57		%2.84		%2.22	

* Her bir grup için, enfeksiyonun 30. gününe kadar atılan toplam oocyst kompozisyonu içerisindeki *E. maxima* oranı

siyon tekrarıdır. Kaldı ki, az sayıda *E. maxima* oocysti inokulasyonunu takiben gelişen hafif seyirli veya *E. tenella* kaynaklı şiddetli enfeksiyonların sonucunda etkili bağırsıklık düzeyine ulaşılabildiği, bağırsak mukozasında yüzlek yerleşim gösteren *E. mitis* ve *E. acervulina* gibi türlere karşı immunitenin aktive olabilmesi için ise enfeksiyonun peş peşe birkaç defa tekrarlanması gerektiği bildirilmiştir ^{6,22-24}. Bu veriler, meydana gelen dalgalanmanın neden azalan bir seyir gösterdiğini de bir noktada açıklamaktadır. Broiler kümeslerinde, civcivlerin genellikle ilk haftalarda enfekte oldukları, 4-5. haftalarda altlıktaki oocyst yoğunluğunun en üst düzeye çıktığı ve takip eden birkaç hafta içerisinde de söz konusu yoğunluğun yeniden en alt düzeye indiği bildirilmiştir ⁶. Ayrıca derin altlık katmanında bile oocystlerin 3 hafta kadar canlılıklarını korudukları bilinmektedir ²⁵. Yine, tavuklarda etkili olan *Eimeria* oocystlerinin genellikle 2 gün içerisinde sporlandığı da kaydedilmiştir ³. Bu şartlar altında, altlıktan alınan sporlanmış oocystlere bağlı olarak, belli bir büyüklüğe gelmiş dolayısıyla da oocyst üretme kapasitesi artmış civcivlerde ²⁶ yüksek düzeyde dalgalanma beklentisine girmek mümkündür. Ancak, bu seferde önceki enfeksiyondan kazanılan olası bağırsıklık gündeme gelmekte ve dolayısıyla da dalgalanmanın şiddeti azalmaktadır. Yine, 25 binlik grupta oocyst atılımının daha düzenli ve uzun soluklu, dalgalanmanın ise daha belirgin olmasına rağmen, 750 binlik ve 1 milyonluk grupta, başlangıçtaki hızlı yükselişten öte ciddi düzeylerde bir dalgalanma gözlenmemiştir. Bu durumu da yine bağırsıklık ile açıklamak mümkündür. Çünkü yapılan araştırmalar şiddetli enfeksiyonlarda daha iyi bir immunitenin geliştiğini ve gelişen iyi bir immunitenin de ikincil oocyst atımlarını baskıladığını göstermiştir ^{6,23,24}.

Oocyst atılım seyrine yönelik olarak yapılan başka bir çalışmada, enfeksiyon dozu ile patent dönemin süresinin genellikle birbiri ile doğru orantılı olduğu, düşük dozlarla enfekte edilen gruplarda, oocyst atılımının, türe göre, ya erken sonlandığı (*E. necatrix*, *E. mitis*) veya hem geç başlayıp hem de erken sonlandığı (*E. maxima*, *E. brunetti*) görülmüştür. Ancak, bazı türlerde (*E. tenella*, *E. precox*) enfeksiyon dozunun patent dönemin uzunluğunu pek etkilemediği de anlaşılmıştır ¹¹. Bu çalışmada da, patent dönemin başlangıcında şekillenen oocyst atılım dalgası, düşük dozda daha uzun sürerken yüksek dozlarda daha şiddetli ve kısa sürmüştür.

Tüm dünyada yaygın olarak görülen *E. maxima*'nın kanatlı coccidiosis etkenlerinden en immunojenik tür olduğu, tek seferlik enfeksiyonda bile spesifik immunitiyi iyi derecede uyardığı, ancak etkili bir bağırsıklık için tekrarlayan enfeksiyonların daha başarılı olduğu bildirilmiştir ²³. Kırk bin *E. maxima* oocysti verilen 5 haftalık civcivlerde enfeksiyonun 6. günü oocyst atılımının başladığı, 7. günde en üst düzeye çıkan atılımın, yükselişe

geçen kan antikor ve lenfosit titresine ters orantılı olarak azaldığı görülmüştür ²⁷. Yine, 100 oocyst ile enfekte edilen 1 günlük civcivlerde de, oocyst atılımının enfeksiyonun 6. gününde başladığı, 8. gününde en üst düzeye çıktığı ve zamanla azalarak 20. günde sonlandığı anlaşılmıştır ²². Yapmış olduğumuz çalışmadaki bütün gruplarda da *E. maxima* atılımı enfeksiyonun 6. gününde başlamıştır; ancak, söz konusu ilk gün atılımı, gram dışındaki oocyst sayısı bakımından yüksek olmuş ve takip eden dönemde de total oocyst atılımındaki benzer şekilde dalgalanmalar görülmüştür. Burada meydana gelen atılım seyrini de yine total oocyst atılım seyrine benzer şekilde nedenselleştirmek mümkündür. Çalışmada, farklı bölgelerden elde edilmiş olan fazla sayıda enfekte dışkı örneğinden yararlanılmış olmamızdan ötürü, büyük olasılıkla inokulum da yine çok sayıda tür ve suş barındırmıştır. *Eimeria maxima*'nın ülkeler arasında olduğu kadar, bir ülke veya bölge içerisinde de yüksek düzeyde antijenik çeşitlilik sergilediği ve çok sayıda farklı immunojen suşa sahip olduğu ve gelişen bağırsıklığın suşa özgü bir nitelik taşıdığı bildirilmiştir ⁶⁻⁸. Ancak, bir türe ait suşların atılım karakteristiği de yine birbirine benzeyeceğinden dolayı, atılımda meydana gelen dalgalanmayı suş tabanında açıklamak pek olası görünmemektedir.

Eimeria türlerinin çoğalma kapasitesi ile ilgili olarak, tek bir sporlanmış oocystin neden olduğu üretimin *E. tenella* ve *E. brunetti* için 400 bin, *E. acervulina* için 72 bin, *E. necatrix* için 58 bin ve *E. maxima* için 12 bin oocyst olduğu bildirilmiştir ⁵. Çalışmada kullandığımız inokulumda %5.0 oranında *E. maxima* olmasına karşın, çalışma dönemi boyunca atılan toplam oocystlerdeki bu oran gruplara göre %2.04-3.90 arasında değişmiştir. Türler arasında görülen çoğalma kapasitesi farklılıkları ve *E. maxima*'nın bu noktada diğer türlere göre daha zayıf kalması durumu, söz konusu oransal azalışın nedeni olarak yorumlanmıştır. Günlük takiplerden elde edilen verilerde, gram dışındaki toplam oocyst yoğunluğu ile *E. maxima* sayısı arasında veya enfeksiyon dozu ile atılan toplam *E. maxima* sayısı arasında geçen grafiksel bir ilişki elde edilememiştir. Aynı açıklanabilir ilişkiye, gram dışı üzerinden atılan toplam oocyst sayısı ile enfeksiyon dozu arasında da rastlanamamıştır.

Yapılan bir çalışmada ¹⁰, 6 haftalık civcivlere *E. acervulina*, *E. brunetti* ve *E. maxima* tek tek veya birlikte verilmiş ve tek başına *E. brunetti* enfeksiyonuna kıyasla iki türün birlikte verildiği civcivlerde ağırlık kaybının daha fazla, 3 tür birlikte verildiğinde daha az olduğu ve *E. maxima*'nın ikili kombinasyonlarda ikinci türün bağırsak lezyonlarını arttırıcı etki gösterdiği anlaşılmıştır. Oocyst üretimi yönünden ise, *E. acervulina* üretimi, tek veya *E. brunetti* ile beraber verilme durumundan etkilenmemiş, ancak *E. maxima* ile birlikte verildiğinde oocyst üretimi yarından daha az bir seviyeye inmiştir. Benzer azalma

durumuna *E. brunetti* ve *E. maxima* ortak veya üç türün birlikte verildiği enfeksiyonlarında da rastlanmıştır. Başka bir çalışmada ¹¹, bir haftalık civcivlere verilen her bir oocyst başına en çok üretimi sağlayan enfeksiyon dozunun, türe göre değişmekle birlikte genellikle 16-72 arasında (*E. acervulina* için 903 oocyst) olduğu ve toplamda en çok oocyst üretimini sağlayan dozun ise bu değerden daha fazla, ancak patojen türler için genellikle ölüm dozunun altında yer aldığı bildirilmiştir. Eşik değer olarak tanımlanabilecek belli bir enfeksiyon dozunun üzerinde ise, oocyst atılımının azaldığı, söz konusu bu durumun da "kalabalık etkisi" ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Her ne kadar yoğun enfeksiyonlarda parazitler arasında ortaya çıkan konak hücre rekabetinin adı geçen etki üzerinde önem taşıdığı bildirilmiş ise de genel kanı durumun immunityle bağlantılı olduğu yönündedir ^{5,9,11,25}. Yapmış olduğumuz çalışmada ise, adı geçen etkiyi gösterir bir sonuç elde edilememiştir. Ancak, çalışmada her ne kadar fazla miktarda dışkı toplanıp karıştırılarak oocyst yoğunlukları belirlenmiş ise de, sahadaki altlık şartlarının benzetildiği bölmelerde gün boyunca atılan toplam dışkı miktarını belirlemek mümkün olmamıştır. Dolayısıyla, her ne kadar gram dışkıdaki oocyst yoğunlukları ile ilgili veriler arasında doz temelinde düzgün bir ilişki yok ise de, total dışkı miktarı üzerinden düşünüldüğünde farklı çıkarımlarda bulunmak olasıdır. Gruplarda doza bağlı olarak ortaya çıkan klinik veriler, her bir grubun tükettiği yem miktarının, dolayısıyla da dışkı hacminin birbirinden farklı olduğunu, yüksek dozlardaki yem tüketiminin, özellikle de akut dönemde belirgin derecede azaldığını göstermiştir. Bu durum ise, toplamda üretilen oocyst miktarı konusunda düşük dozlarda enfekte edilen gruplar lehine bir görüntü arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- 1. Euzeby J:** Protozoologie Medicale Comparee Vol II. Myxozoa-Microspora-Ascetospora-Apicomplexa, 1: Coccidiosis (Sensu Lato). Coll. Fond. Marcel Merieux, 1987.
- 2. Williams RB:** A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. *Int J Parasitol*, 29, 1209-1229, 1999.
- 3. Levine ND:** Veterinary Protozoology. 1st ed. Iowa State University Pres, Ames, Iowa, pp. 130-188, 1985.
- 4. Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Körting W, Schneider T:** Veterinärmedizinische Parasitologie, 5. Auflage Blackwell Wissenschafts, Verlag-Berlin, 2000.
- 5. Suls L:** How to reduce the damage caused by coccidiosis. *In, Positive Action Conferences: 7th International Poultry Health Conference, Coccidiosis Conference*. Hannover, Germany, 2000.
- 6. Shirley M:** The importance of natural immunity. *In, Positive Action Conferences: 7th International Poultry Health Conference, Coccidiosis Conference*. Hannover, Germany, 2000.
- 7. Zahner H, Homringhausen-Riester C, Biirger HJ:** Eimeriosen. *In, Rijllinghoff M, Rommel M (Eds): Immunologische und molekulare Parasitologie*. Gustav Fischer Publ, Jena, pp. 67-82, 1994.
- 8. Jordan FTW, Pattison M:** Poultry Diseases, 4th ed, W.B. Saunders Company Ltd. London, UK, pp. 261-289, 1996.
- 9. Johnston WT, Shirley MW, Smith AL, Gravenor MB:** Modelling host cell availability and the crowding effect in *Eimeria* infections. *Int J Parasitol*, 31, 1070-1081, 2001.
- 10. Hein HE:** *Eimeria acervulina*, *E. brunetti* and *E. maxima*: Pathogenic effects of single or mixed infections with low doses of oocysts in chickens. *Exp Parasitol*, 38 (3): 271-278, 1975.
- 11. Williams RB:** Quantification of the crowding effect during infections with the seven *Eimeria* species of the domesticated fowl: Its importance for experimental designs and the production of oocyst stocks. *Int J Parasitol*, 31, 1056-1069, 2001.
- 12. Péllerdy L:** Coccidia and Coccidiosis. 2nd ed. Verlag Paul Parey, Berlin, 1974.
- 13. Kheysin YM:** Life Cycles of Coccidia of Domesticated Animals. University Park Press, Baltimore, 1972.
- 14. Conway DP, McKenzie ME:** Poultry Coccidiosis: Diagnostic and Testing Procedures. 2nd ed. Pfizer Inc, 1991.
- 15. Haug A, Gjevre AG, Thebo P, Mattsson JG, Kaldhusdal M:** Coccidial infections in commercial broilers: Epidemiological aspects and comparison of *Eimeria* species identification by morphometric and polymerase chain reaction techniques. *Avian Pathol*, 37 (2): 161-170, 2008.
- 16. Kardeş-Duman G:** Etlik piliçlerde canlı aşı uygulamalarının koksidiyozdan korunmadaki etkisinin araştırılması. *Doktora tezi*. Ankara Üniv Sağlık Bil Enst, Ankara, 2004.
- 17. Redrobe S, Meredith A:** Small Mammal, Exotic Animal and Wildlife Nursing. *In, Moore AH (Ed): BSAVA Manual of Advanced Veterinary Nursing*. Iowa State University Press, pp. 85-100, 1999.
- 18. Davis LR:** Techniques. *In, Hammond DM, Long PL (Eds): The Coccidia: Eimeria, Isospora, Toxoplasma and Related Genera*, University Park Press, Baltimore and Butterworth and Co (Publishers) Ltd, London, pp. 413-453, 1973.
- 19. Aydemir M:** Marmara bölgesinde hindi coccidiosis'inin epizootiyolojisi üzerinde araştırmalar. *Doktora tezi*, İstanbul, 1983.
- 20. Péllerdy L:** Coccidia and Coccidiosis. Revised by: S. Kotlán. Publishing House of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, 235-287, 1965.
- 21. Rose ME, Long PL:** Immunity to four species of *Eimeria* in fowls. *Immunology*, 5, 79-92, 1962.
- 22. Chapman HD, Matsler PL, Muthavarapu VK, Chapman ME:** Acquisition of immunity to *Eimeria maxima* in newly hatched chickens given 100 oocysts. *Avian Dis*, 49, 426-429, 2005.
- 23. Schnitzler BE, Shirley MW:** Immunological aspects of infections with *Eimeria maxima*: A short review. *Avian Pathology*, 28, 537-543, 1999.
- 24. Davies SFM, Joyner LP, Kendall SB:** Coccidiosis. Great Britain, Oliver and Boyd Ltd. Edinburgh. pp. 235-296, 1963.
- 25. Long PL:** Pathology and Pathogenicity of Coccidial Infections. *In, Hammond DM, Long PL (Eds): The Coccidia: Eimeria, Isospora, Toxoplasma and Related Genera*. University Park Press, Baltimore and Butterworth and Co (Publishers) Ltd, London, pp. 254-294, 1973.
- 26. Doran DJ, Farr MM:** Susceptibility of 1- and 3-day-old chicks to infection with the coccidium, *Eimeria acervulina*. *J Protozool*, 12, 160-166, 1965.
- 27. Talebi A, Mulcahy G:** Correlation between immune responses and oocyst production in chickens mono-specifically infected with *Eimeria maxima*. *Avian Pathol*, 24, 485-495, 1995.