

**\*TAVŞANLARDA FARKLI EIMERIA STIEDAE SUŞLARI İLE OLUŞTURULAN DENEYSSEL KARACİĞER KOKSİDİYOZUNDA PATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI  
COMPARISON OF PATHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL FINDINGS IN EXPERIMENTALLY INDUCED THE LIVER COCCIDIOSIS BY DIFFERENT TYPES OF EIMERIA STIEDAE STRAINS IN THE RABBITS**

Ayhan ATASEVER<sup>1</sup>, Gökhan SEYFİ<sup>2</sup>, Görkem EKEBAŞ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri

<sup>2</sup>T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Kayseri

**ÖZ**

Çalışma, tavşanlarda *E. stiedae*'nin saha ve standart suşuyla oluşturulan karaciğer koksidiozisinde klinik, biyokimyasal ve patolojik bulguları karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada, 1-1.5 kg, 6-8 haftalık 36 adet yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Hayvanlar 3 gruba ayrılmıştır. Birinci grup kontrol tutulurken, sırasıyla ikinci ve üçüncü gruptaki tavşanlara, 1 ml'sinde 50.000 sporlanmış oosit içeren saha ve standart suştan, 1 ml direkt sonda ile ağızdan mideye verilmiştir. Makroskopik ve histolojik olarak *Eimeria stiedae* standart suşu inokule edilen üçüncü gruba göre, saha suşu inokule edilen ikinci grupta daha şiddetli karaciğer lezyonları belirlenmiştir. Etken inokulasyonunun 20. ve 30. günlerinde; serum gamma glutamiltransferaz (GGT), alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) enzim aktivitelerinde grup bir ile grup ikideki tavşanlar arasında istatistiksel önemli bir fark bulunmamıştır. Buna karşın, etken inokulasyonunun 20. ve 30. günlerinde, grup birdeki tavşanlara ait serum GGT, ALT ve AST enzim aktivitelerine göre grup üçteki tavşanların enzim aktivitelerinde önemli bir artış ( $p<0.001$ ) belirlenmiştir. Tavşanlarda *E. stiedae*'nin saha ve standart suşu ile oluşturulan karaciğer koksidiozisinde bazı klinik, biyokimyasal ve patolojik değişikliklerin, oluşan enfeksiyonun şiddeti ile farklılık gösterebileceğinin ortaya konulduğu ilk çalışmadır.

**Anahtar kelimeler:** Biyokimyasal parametre, *Eimeria stiedae*, patoloji, tavşan.

**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 stiedae* in the rabbits. Thirty-six New Zealand rabbits weighing 1.5 kg and aged 6-8 weeks were used. The rabbits were allocated into three groups, the first of which was healthy control group. One ml of inoculum of field strain and standard strain containing 50 000 sporulated *E.stiedae* oocysts per ml were administered orally by a catheter to each rabbit in the second group and third group, respectively. Liver lesions were more severe in the second group of the *Eimeria stiedae* field strain inoculated than the third group in which the *Eimeria stiedae* standard strain was inoculated macroscopically and histologically. No statistical difference was found in serum GGT, ALT and AST enzyme activities between the first and second group at day 20 and 30 after the inoculation. However, at day 20 and 30 after the inoculation, a significant increase ( $p<0.05$ ) was found in serum GGT, ALT and AST enzyme activities of the rabbits in the third group compared to those in group one. This is the first study to suggest that some clinical, biochemical and pathological changes in the liver coccidiosis induced with a field and standard strain of *E. stiedae* may vary depending on the severity of the infection.

**Keywords:** Biochemical parameter, *Eimeria stiedae*, pathology, rabbit.

\*Erciyes Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi (SBT-06-14 no'lu proje) tarafından çalışmaya finansal destek sağlanmış, aynı başlıklı yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

Makale Geliş Tarihi : 28.02.2018

Makale Kabul Tarihi: 20.06.2018

**Corresponding Author:** Prof. Dr. Ayhan ATASEVER  
**Elektronik posta adresi;** atasevera@erciyes.edu.tr  
**Telefon;** 0352 339 94 84 /29925

## GİRİŞ

Koksidiyozis, evcil ve yabani hayvanlarda görülen özellikle de gençlerde ölüme, yaşlılarda subklinik enfeksiyonlara, ekonomik kayıplara yol açan bir protozoon hastalığıdır (1-5). Tavşanlarda koksidiyozise klinikte karaciğer ve barsak enfeksiyonu şeklinde rastlanılmaktadır. Patojenitesi yüksek olan *Eimeri stiedae* tavşan karaciğer koksidiyozisini oluşturan tek protozoon türüdür, barsak koksidiyozisine ise (*E. coecicola*, *E. exigua*, *E. flavescens*, *E. intestinalis*, *E. irrisidua*, *E. magna*, *E. media*, *E. perforans* ve *E. priformis*) türleri neden olmaktadır (1,3,5-9). *E. perforans* (10), *E. intestinalis*, *E. perforans* ve *E. coecicola* türlerine (11) özgü çalışmalar bildirilmektedir. *E. stiedae* etkeni dünyada evcil ve laboratuvar tavşanlarında görülen yaygın tür olup, öldürücü karaciğer koksidiyozisine yol açmaktadır (1,4,5,7,12-14).

*Eimeria stiedae*'nin neden olduğu hafif ve orta şiddetli enfeksiyonlarda genellikle kilo kaybı dışında belirgin klinik semptom görülmezken, çok şiddetli enfeksiyonlarda karaciğerin ağır yıkımından dolayı fonksiyonel bozukluklar da ortaya çıkmaktadır. Hasta tavşanlarda iştahsızlık, durgunluk, diyare veya konstipasyon, ilerleyen zayıflama, karaciğer büyümesi, asites, sarılık, karında sarkma ve ölüm görülmektedir (1,2,4,5,7,10,15-19). *Eimeria stiedae* tarafından doğal ve deneysel oluşturulan karaciğer koksidiyozisinde serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) (15), gamma glutamiltansferaz (GGT) (17,20), alkalen fosfataz (ALP) (7,21) aktivitelerinde artış, albumin düzeyinde azalma, globulin ve total protein düzeylerinde artış (22,23) görüldüğü bildirilmektedir. Ayrıca tavşanlarda doğal yolla oluşmuş bağırsak koksidiyozisinde, serum ALT, AST, Laktat dehidrogenaz (LDH) değerleri incelenerek sağlıklı kontrol gruplarına göre bu değerlerde artış belirtilmektedir (24).

Ülkemizde tavşanlarda bildirilen karaciğer koksidiyozisi çalışmaları genelde dışkı muayeneleri, koksidiyozisin bazı serum ve mineral madde düzeylerine etkisi, çeşitli kimyasal maddelerin koksidiyozise karşı koruyucu ve tedavi edici özellikleri, etkenin moleküler (PZR) identifikasyonu şeklindedir (11,24,26,27,30).

Bu çalışmada ise saha ve standart *E. stiedae* suşlarının kullanılmasıyla oluşturulacak deneysel enfeksiyonlarda oluşacak lezyonlarının klinik, patolojik, biyokimyasal bulgularının karşılaştırılmasının ilk kez yapılacak olması ülkemizde bu konuda yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak çalışmaya orijinallik kazandırmış olacaktır.

## MATERYAL ve METOT

**Hayvan materyali:** 6-8 haftalık, 1-1.5 kg ağırlığında toplam 36 adet sağlıklı yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Tavşanlar, 3'er ve 4'erli olarak tel kafeslerde tutulmuş, pelet yem ile ad libitum olarak beslenmiş ve kafeslerinde sürekli temiz su bulundurulmuştur. Bu çalışma için, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulundan 006/006 nolu komite onayı alınmıştır.

**Deneysel Grupları ve Deneysel Düzeni:** Kayseri'den tavşan yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde karşılaşılan doğal karaciğer koksidiyozis olgularından *E. stiedae* saha suşu elde edilmiştir. Standart *E. stiedae* (Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Inada-Cho, Obihiro-City Hokkaido, Japan) suşu da Dr. Y. Omata'dan temin edilmiştir. Etkenin çoğaltılması amacıyla tavşanlarda pasajlama işlemi yapılmıştır. *Eimeria stiedae*'nin

sporlu oositlerini içeren potasyum dikromatlı süspanسیون, santrifüj tüplerine bölünerek 2000 rpm 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra üstteki sıvı kısmı atılarak tüplerin dibindeki tortu bir kaba toplanmıştır. Potasyum dikromattan oositleri arındırmak için distile su ile önceki miktara tamamlanarak homojen hale getirilip aynı devir ve zamanda aynı işlemler 3 kez yapılmıştır. En son işlemlerden sonra tüplerin diplerindeki tortular bir kaptan toplanıp, distile su ile sulandırılmıştır. Bu solüsyondan mikropipet yardımıyla 0.15 ml'si alınıp Long ve ark (22)'nin bildirdiği yöntemle göre McMaster lamının tüm karelerine düşen oositler 10'luk objektif altında Olympus (Olympus Corporation, Tokyo, Japonya) mikroskopunda sayılıp ortalaması alınarak, 1 ml'sinde 50.000 adet sporlu oosit olacak şekilde hazırlanan inokulum distile su ile sulandırılmıştır. Hayvanlar tek tek tartılarak her bir grupta 12 hayvan bulundurulmuş 3 grup oluşturulmuştur. Gruplar 10 gün koksidiyozis etkenleri yönünden yapılan gaita muayenelerini takiben etken taşımadıkları belirlendikten sonra çalışmada kullanılmıştır. Birinci grup tavşanlar herhangi bir etken verilmeden tüm araştırma süresince diğer grupların kontrolü olarak tutulmuştur. Bir ml'sinde *E. stiedae*'nin 50.000 sporlu oositini içeren saha suşundan hazırlanan inokulumdan ikinci gruptaki tavşanlara sonda ile ağız yoluyla verilmiştir. Üçüncü grup tavşanlara da *Eimeria stiedae* standart suşu benzer şekilde verilmiştir. Etken inokulasyonundan 20 gün öncesi ve sonrası ile deneme sonu olan 30. günde tavşanlardan kan numuneleri toplanmıştır. Alınan kan örnekleri 1 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 3000 rpm 10 dakika santrifüje edilerek serumlar alınıp analize kadar -20 °C'de saklanmıştır. Serum alkalen fosfataz (ALP), gamma glutamiltansferaz (GGT), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) aktiviteleri ile albumin, globulin ve total protein değerleri ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Kan almayı takiben, ötenaziden sonra hayvanlara nekropsi yapılmıştır (çalışma sonu olan 30. günde). Histopatolojik inceleme için %10 nötral formalin solüsyonuna karaciğer doku örnekleri alınarak tespit edilmiş, dokular rutin olarak işlenip, parafinde bloklanmış. Parafin bloklardan hazırlanan 5-6 mikron kalınlığındaki kesitler hematoxilen-eozin ile boyanıp ışık mikroskopu ile incelenmiştir.

## İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizlerinde SPSS 14.0 (IBM, New York, ABD) istatistik programı kullanılmıştır. Veriler ortalama ve standart hata olarak verildi. P değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde normal dağılıma uygunluk gösterdiğinden grupların ortalama değerleri arasındaki farklılıkların önem kontrolü tek yönlü varyans analizi (ANOVA), ikili karşılaştırmalar Duncan testi ile yapıldı.

## BULGULAR

**Klinik Bulgular:** Çalışma boyunca kontrol grubundaki tavşanlarda herhangi bir klinik bulguya rastlanılmamıştır. Hayvanların beden ısıları, yem yeme ve su içmeleri normal olduğu gözlenmiştir. *Eimeria stiedae* saha suşu inokule edilen ikinci ve standart suşu inokule edilen üçüncü gruplardaki tavşanlarda inokulasyondan sonraki 20. günden itibaren iştahta azalma, hafif durgunluk, müköz membranlarda hafif sarılık ve karında genişleme

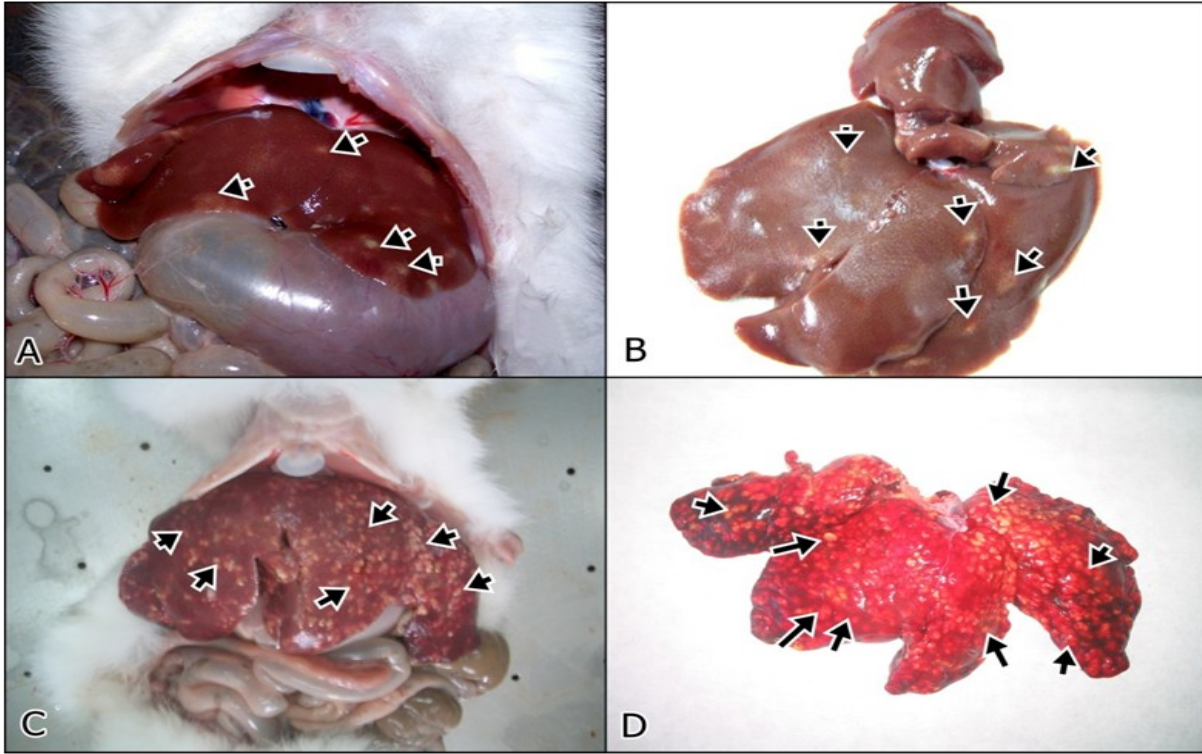
-sarkma gözlenmiştir.

**Biyokimyasal Bulgular:** Biyokimyasal parametreler Tablo 1'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi, çalışma öncesi tüm gruplara ait biyokimyasal parametrelerin normal sınırlar arasında olduğu ve gruplar arasında istatistikî önem olmadığı saptanmıştır. Buna ilaveten, etken inokulasyonunun 20. ve 30. günlerinde; serum ALP enzim aktivitesi, total protein ve albumin değerleri açısından gruplar arasında istatistikî açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Serum GGT, ALT ve AST enzim aktivitelerinde sağlıklı kontrol grubu ile saha suşu grubundaki tavşanlar arasında istatistikî açıdan da önemli bir fark bulunmamışken, standart saha suşu verilen gruptaki tavşanların aynı enzim aktivitelerinde önemli bir artış ( $p<0.001$ ) belirlenmiştir.

**Makroskopik Bulguları:** Birinci gruptaki tavşanların yapılan nekropsilerinde makroskopik bir lezyona rastlanılmamıştır. İkinci gruptaki tavşanların karaciğerleri oldukça büyümüş, safra kanalları genişlemiş, üzerlerinde subseröz yerleşimli sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklük ve şekillerde hafif dışarı taşkınlık gösteren nodüller belirlenmiştir (Şekil 1AB). Bu nodüllerin kesit yüzeyinden sarımtırak krem renkte akışkan içerisinde oositler bulunan bir sıvının aktığı saptanmıştır. Üçüncü grup tavşanların karaciğerlerinde, ikinci gruptakinden oldukça büyük, safra kanalları genişlemiş ve belirginleşmiş olduğu gözlenmiştir. Subseröz olarak karaciğerin tamamını kaplamış durumda sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklüklerde ve şekillerde dışarı taşkınlık gösteren nodüller görülmüştür (Şekil 1CD). Bu nodüllerin

Tablo 1. Gruplara ait serum biyokimyasal parametreleri. <sup>a,b</sup>. Aynı parametre için aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arası fark önemlidir. ALP; alkalin fosfataz, GGT; gamma glutamiltransferaz, AST; aspartat aminotransferaz, ALT; alanin aminotransferaz.)

Parametre		Periyot 1 (Sıfıncı gün)	Periyot 2 (Yirminci gün)	Periyot 3 (Otuzuncu gün)
ALP	Grup 1	236,17±13,62	215,57±14,54	199,78±8,06
	Grup 2	237,88±10,89	225,01±14,65	195,00±9,69
	Grup 3	246,87±12,13	237,35±11,04	215,61±8,61
	P değeri	P>0,05	P>0,05	P>0,05
GGT	Grup 1	17,45±0,60	15,60±2,08 <sup>a</sup>	15,49±3,95 <sup>a</sup>
	Grup 2	17,36±0,95	18,70±4,31 <sup>a</sup>	15,19±3,06 <sup>a</sup>
	Grup 3	16,90±0,66	39,13±4,01 <sup>b</sup>	57,44±4,77 <sup>b</sup>
	P değeri	P>0,05	P<0,001	P<0,001
ALT	Grup 1	45,54±2,81	43,58±3,30 <sup>a</sup>	47,27±4,93 <sup>a</sup>
	Grup 2	43,15±3,69	45,78±5,52 <sup>a</sup>	74,79±2,09 <sup>a</sup>
	Grup 3	44,38±3,32	119,47±12,87 <sup>b</sup>	152,32±13,84 <sup>b</sup>
	P değeri	P>0,05	P<0,001	P<0,001
AST	Grup 1	36,74±7,41	33,43±2,66 <sup>a</sup>	36,36±2,70 <sup>a</sup>
	Grup 2	37,75±6,85	36,07±3,13 <sup>a</sup>	58,95±3,713 <sup>a</sup>
	Grup 3	37,45±7,53	122,56±13,69 <sup>b</sup>	162,09±15,45 <sup>b</sup>
	P değeri	P>0,05	P<0,001	P<0,001
ALBUMİN	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
	P değeri	P>0,05	P>0,05	P>0,05
TOTAL PROTEİN	Grup 1	5,74±0,23	5,81±0,67	5,65±0,47
	Grup 2	5,53±0,37	5,35±0,79	5,44±0,43
	Grup 3	5,65±0,29	5,88±0,50	6,00±0,49
	P değeri	P>0,05	P>0,05	P<0,05



**Şekil 1. A-B.** II. gruptaki tavşanlarda karaciğer subserozası altında sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklüklerde nodüllerin görünümü (oklar). **C-D.** III. gruptaki tavşanlarda karaciğer subserozası altında sarımsı-beyaz renkte değişen büyüklüklerde nodüllerin görünümü (oklar).

kesit yüzeyinden sarımsı krem renkte akışkan oosit içeren sıvının aktığı saptanmıştır.

**Mikroskopik Bulgular:** Birinci gruptaki tavşanlardan alınan karaciğer dokularının mikroskopik incelenmesinde herhangi bir patolojik lezyona rastlanılmamıştır.

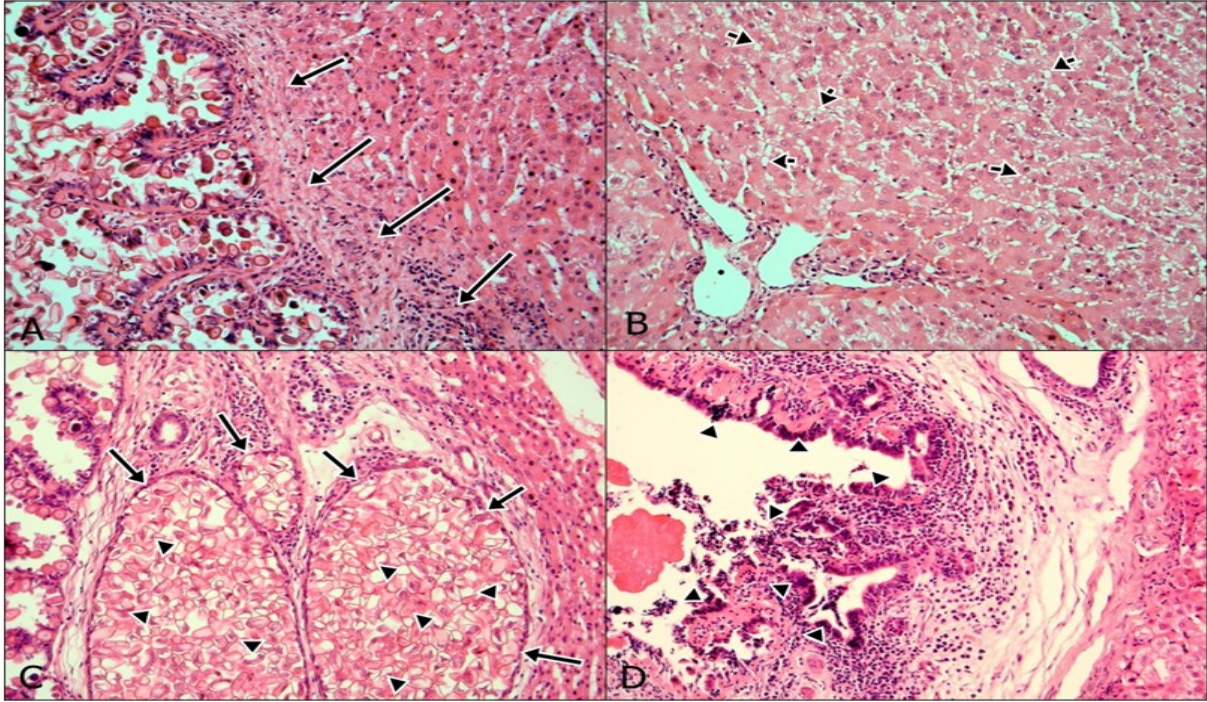
İkinci grup tavşanların karaciğer dokularında safra kanalları genişlemiş, epitelleri ile birlikte lumene doğru parmakvari uzantılar oluşturacak şekilde hiperplazik üremelerin olduğu görülmüştür. Bu kanalların periferinde fibröz doku ile lenfoid hücre infiltrasyonu ve hepatositlerde hidropik dejenerasyon saptanmıştır (Şekil 2AB). Etkenden uzak karaciğer parankim dokusu içerisinde fokal nekroz odakları, fibröz doku ve içerisinde lenfoid hücrelerin bulunduğu alanlar dikkati çekmiştir. Etkenin gözlenmediği portal alanlarda fibroz dokuda artış ve lenfoid hücre infiltrasyonları görülmüştür. Bazı safra kanalları epitelleri tamamen dökülmüş, lumen tamamen dejenere oositler ile dolu olduğu saptanmıştır (Şekil 2C). Bu kanalların dökülmüş epitellerinin yerinde rejeneratif ve hiperplazik değişiklikler dikkati çekmiştir (Şekil 2D).

Üçüncü grup tavşanların karaciğerin de lezyonlar çok daha şiddetli olmak kaydıyla safra kanalları oldukça genişlemiş, epitelleri ile birlikte lumene doğru parmakvari uzantılar oluşturacak şekilde hiperplazik üremeler şekillenmiştir (Şekil 3A). Bu hiperplazik yapılar yer yer birleştiği için safra kanalları lümeninde adenomatöz alanlar oluşturmuştur. Safra kanalı epitel hücrelerinde *E. stiedae* etkenine ilişkin değişik gelişim formları dikkati çekmiştir. Çoğunluğu makrogamet ve oositlerden oluşan bu formlar yanında dejenere oositler ile epitel hücrelerinde dejeneratiften nekroza kadar

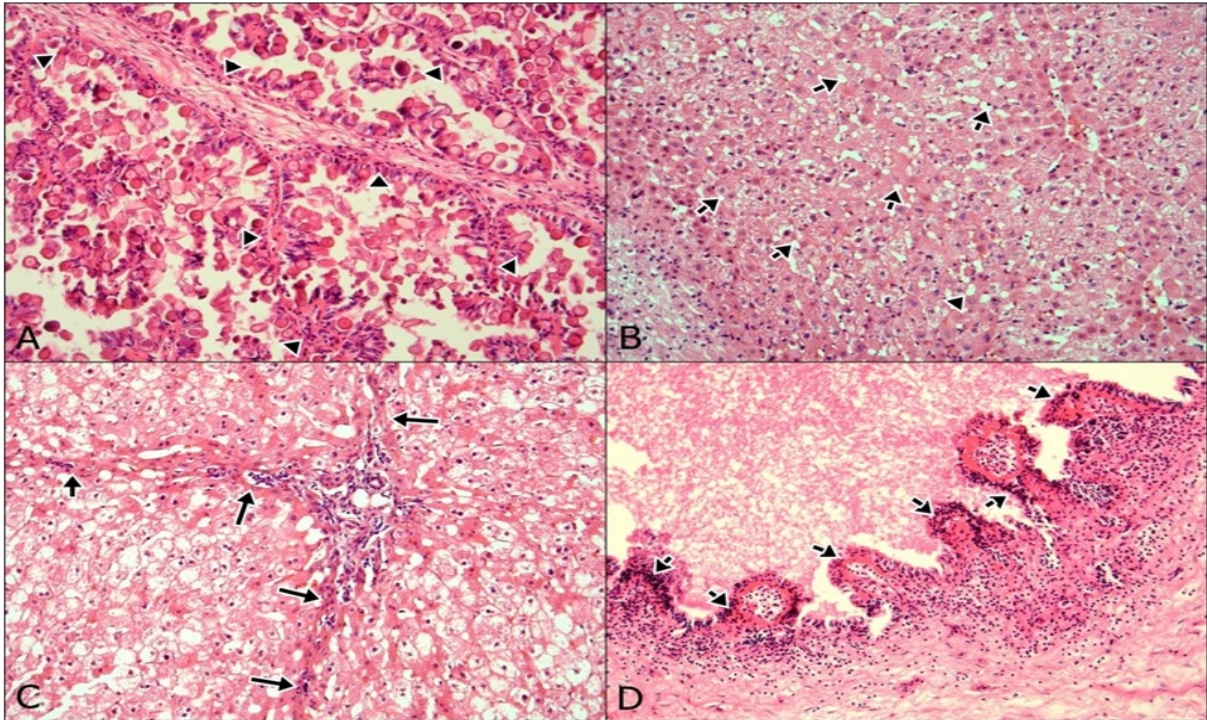
varan değişiklikler görülmüştür. Bu kanalların periferinde fibrosit ve fibroblastlar ile kollagen demetlerden oluşan fibröz doku ile çoğunluğunu lenfositlerin oluşturduğu lenfoid hücre infiltrasyon odakları saptanmıştır. Bu dokuya yakın hepatositlerden bazılarının sitoplazmaları içerisinde büyüklükleri farklı vakuol oluşumları ile bazılarında hücre bütünlüğünü tamamen bozulup vakuoler ve hidropik dejenerasyonlara uğradığı gözlenmiştir (Şekil 3B). Etkenden uzak parankim doku içerisinde pembe homojen renkli fokal nekroz odakları, fibröz doku ve içerisinde çoğunluğu lenfositlerden hücre infiltrasyon odaklarının bulunduğu alanlar dikkati çekmiştir. Etkenin gözlenmediği portal alanlarda fibrosit, fibroblast ve kollagen demetlerden oluşan fibroz dokuda artışı ve lenfoid hücre infiltrasyonları görülmüştür. Portal bölgeden yayılan fibroz doku, parankimi yer yer lobüllü bir yapıya döndürmüştür (Şekil 3C). Bazı safra kanalları epitelleri tamamen dökülmüş, lumen tamamen dejenere oositler ile dolu olduğu gözlenmiştir. Bu kanalların dökülmüş epitellerinin yerinde rejeneratif ve hiperplazik değişiklikler dikkati çekmiştir (Şekil 3D).

#### TARTIŞMA ve SONUÇ

Karaciğer koksidiyozisine sebep olan *E. stiedae* dünya da tavşanlarda görülen en yaygın tür olduğu saptanmıştır (1,4,5,7,12-14). Doğal enfeksiyonların, sporlu oositlerle bulaşmış yem ve suların oral yolla alınmasıyla başladığı bildirilmektedir (1,3,5,7). Bu deneysel çalışmada da enfeksiyon benzer şekilde sporlu saha ve standart *E. stiedae* oositleri tavşanlara oral yolla sonda aracılığıyla direkt mideye inokule edilerek gerçekleştirilmiştir.



**Şekil 2.** A. Grup II'deki hayvanların karaciğerinde safra kanalları periferinde fibröz doku ile lenfoid hücre infiltrasyonu odakların görünümü (oklar), Karaciğer, HxE., x200. B. Grup II'deki hayvanların karaciğerlerinde hepatosit sitoplazmalarında farklı büyüklüklerde, keskin kenarlı, yuvarlak vakuollerin görünümü (oklar). Karaciğer, HxE., x100. C. Grup II'deki hayvanların karaciğerinde, bazı safra kanallarının epitelleri tamamen dökülmüş (oklar), lumenleri dejeneratif oositler ile dolu (ok başları). Karaciğer, HxE., x200. D. Grup II'deki hayvanların karaciğerinde, safra kanallarının kısmen dökülmüş epitellerinde rejeneratif ve hiperplazik değişikliklerin görünümü (Ok başı). Karaciğer, HxE., x200.



**Şekil 3.** A. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, safra kanalları genişlemiş ve epitellerinin hiperplazik görünümü (ok başı). Karaciğer, HxE, x200. B. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, safra kanallarına yakın hepatositlerden bazılarının sitoplazmaları içerisinde büyüklükleri farklı keskin kenarlı yuvarlak vakuol oluşumu (oklar). Karaciğer, HxE., x200. C. Grup III'deki hayvanların karaciğerlerinde, portal bölgeden parankime yayılan fibröz doku (oklar) ve parankimin yer yer lobüllü bir yapıya dönmüş görünümü. Karaciğer, HxE., x200. D. Grup III'deki hayvanların karaciğerinde, safra kanallarının kısmen dökülmüş epitellerinde rejeneratif ve hiperplazik değişikliklerin görünümü (oklar). Karaciğer, HxE., x200.

Çeşitli araştırmacıların bildirimleriyle (1,2,4,5,17,18,28) uyumlu olarak bu çalışmada da kontrol grubuna göre enfekte ikinci ve üçüncü gruplarda bulunan tavşanlarda etken inokulasyonun 20. gününden itibaren gözlenen hafif durgunluk, mukoz membranlarda hafif sarılık, abdominal genişleme ve dışkıda saptanan *E. stiedae* oosit sayısı saha suşu ile enfekte tavşanlarda orta derecede olup doğal enfeksiyonlarda bildirilenlerle örtüşürken, standart suş ile enfekte tavşanlarda daha şiddetli bir enfeksiyon geliştiği görülmüştür. Özellikle bu durum pasajlama işlemi ile yenilenmiş oositlere sahip standart suşa bağlanmıştır.

*Eimeria stiedae*'ye bağlı enfeksiyondan ölmüş hayvanların post-mortem muayenesinde, enfeksiyonun şiddetine göre lezyonlar değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (26,29,30). Genelde karaciğerin önemli ölçüde büyüdüğü ve üzerinde çok sayıda grimsi beyaz, birbirleriyle birleşen dissemine nodüllerin varlığı dikkat çekerken, hafif enfeksiyonlarda karaciğer üzerindeki nodüller toplu iğne başından daha büyük olmadığı belirtilmiştir (26,29,30). Ağır enfeksiyonlarda ise karaciğer vücut ağırlığının % 20'sinden daha fazla olabileceği ve yüzeysel birleşen grimsi beyaz ve sarımsı nodüller arasından güçlükle görülebildiği rapor edilmiştir (1,2,4,7,29,30). Çalışmamızda, saha ve standart suş ile enfekte tavşanlarda diğer araştırmacıların karaciğer koksidiyozisi için 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 benzer olduğu saptanmıştır. Bu konudaki düşüncemiz saha suşunun patojen olması için gerekli bazı faktörler yanında çok sayıda hayvan pasajı ile uyumlu olarak bu durumu gerçekleştirebileceği, aksine standart suşun laboratuvarında üretilmesi için yapılan 3 pasajlama işlemi sonucu elde edilen oositlerin deneysel çalışmada kullanılması ile oluşan lezyonların şiddetinin yapılan pasajlama ile artan oranda paralellik gösterdiği şeklindedir.

Çalışmamızda, diğer araştırmacılar (13,26,29,30) karaciğer dokularında; safra kanallarında yangısal hücre infiltrasyonu ile genişleme ve epitellerinde hiperplazi, parankimde bağ doku artışı ve lenfoid hücre infiltrasyonu bildirirken, *E. stiedae*'nin gelişim formlarına safra kanallarında rastlanması enfeksiyonun şiddeti ile uyumlu olup benzer şekilde mikroskopik bulguların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Özellikle saha suşu ile etkilenen bölgelerdeki histolojik bulgular lokalize iken, standart suş ile ilgili olanlar diffuza yakın olarak daha geniş alanlara yayılmış olması, etkilenen bölgeler dışında karaciğer parankiminde dejeneratif nekrotik kadar varan değişiklikler enfeksiyonun şiddeti ile uyumlu bir görünüm sergilemiştir.

Hepatosellüler hasara bağlı olarak serum AST ve ALT (20), kolestazise bağlı olarak serum GGT aktivitelerindeki artış (17,20) hepatik koksidiyozisli tavşanlarda sık karşılaşılan bulgular olarak bildirilmiştir. Çalışmada, Tablo 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 inokulasyonunun 20. ve 30. günlerinde; serum ALP enzim aktivitesi, total protein ve albumin değerleri açısından gruplar arasında

istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Bura-daki ALP'nin diğer araştırmacıdakinden (20) farklılık göstermesi saha suşu ile enfekte tavşanlarda karaciğer hasarının daha az olması ile açıklanmasına karşın, standart suş ile enfekte hayvanlarda diğer araştırmacıdan (20) farklı olarak artış göstermemiştir. Etken inokulasyonunun 30. gününde sağlıklı kontrol grubu değerlerine göre saha suşu verilen grupta serum ALT ve AST enzim aktivitelerinde arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamasına karşın, etken inokulasyonunun 20. ve 30. günlerinde, sağlıklı kontrol grubundaki tavşanlara ait serum GGT, ALT ve AST enzim aktivitelerine göre standart suşu verilen gruptaki tavşanların enzim aktivitelerinde önemli bir artış ( $p<0.001$ ) belirlenmiştir. Bu da diğer araştırmacıların çalışmalarındaki (18,20,21) değerler ile örtüşmüştür. Nitekim bu gruptaki tavşanların karaciğerlerinde belirlenen histopatolojik lezyonların şiddeti önceki bulgular ile uyum içinde olduğu gözlenmiştir (1,2,4,7).

Bildirilen karaciğer koksidiyozisi çalışmalarında kontrollere göre enfekte hayvanlarda albumin değerinde saptanan düşme, etkene bağlı olarak karaciğerde meydana gelen dejeneratif hasardan dolayı albuminin üretiminin azalmasından kaynaklanabileceği sonucuna varılmışken (22,23), çalışmamızdaki gruplar arasında albumin değerinde istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamış olup, özellikle ikinci gruptaki hayvanlarda enfeksiyonun hafif seyretmesi ve karaciğerde dejenerasyonun şiddetli olmaması bunun nedeni olarak düşünülmüştür. Üçüncü gruptaki tavşanlarda ise yine albumin değerlerinde herhangi bir değişikliğin olmaması diğer araştırmacıların (22,23) bildirdiğinden farklı bir sonuç ortaya koymuştur.

Türkiye de tavşanlarda bildirilen karaciğer koksidiyozisi çalışmaları; dışkı muayenelerinde *Eimeria*'nin tespiti (11), bazı serum ve mineral madde düzeyleri üzerine etki (24), çeşitli kimyasal maddelerin koksidiyozisine karşı koruyucu ve tedavi edici özellikleri (25,26), etkenin moleküler (PZR) identifikasyonu (27) şeklinde bildirilmiştir. Bu çalışmada ise *E. stiedae*'nin saha ve standart suşu ile oluşturulan karaciğer koksidiyozisinde klinik, biyokimyasal ve patolojik değişikliklerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada tavşanlarda *E. stiedae*'nin saha ve standart suşu ile oluşturulan karaciğer koksidiyozisinde bazı klinik, biyokimyasal ve patolojik değişikliklerin enfeksiyonun şiddeti ile farklılık gösterilebileceği belirlenmiştir. Farklı *E. Stiedae* suşlarının (saha ve standart suşun) birlikte kullanıldığı bu deneysel enfeksiyon klinik, biyokimyasal ve patolojik bazı değişikliklerin ortaya konulduğu ve karşılaştırıldığı ülkemizde yapılan ilk çalışmadır.

#### KAYNAKLAR

1. Karaer Z. Evcil Tavşanlarda Coccidiosis. In: Dinçer Ş (eds), Coccidiosis, Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın, Bornova-İzmir 2001; ss 269-278.
2. Silva SM, Ferreira C, Paupéri J, et al. Coccidiosis in European rabbit (*Oryctolagus Cuniculus* Algaris) populations in the Iberian peninsula. Acta Parasitologica 2015; 60: 350-355.
3. Li H, Shen M, Hou Z, et al. Morphology and Molecular Identification of the *Eimeria* spp. in

- Domestic Rabbits. Pakistan Journal of Zoology 2016; 48:289-291.
4. Duszynski DW, Couch L. The Biology and Identification of the Coccidia (apicomplexa) of Rabbits of the World. Elsevier, USA 2013; pp 122-183.
  5. Soulsby EJJ. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals (7th Ed). Bailliere-Tindall, London 1968; pp 149-190.
  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 450-483.
  8. Polozowski A. Coccidiosis of rabbits and its control. Wiadomosci Parazytologiczne 1993; 39:13-28.
  9. El-Shahawi GA, El-Fayomi HM, Abdel-Haleem HM. Coccidiosis of domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in Egypt: light microscopic study. Parasitology research 2012; 110:251-258.
  10. Li MH, Ooi HK. Fecal occult blood manifestation of intestinal *Eimeria* spp. infection in rabbit. Veterinary parasitology 2009; 161:327-329.
  11. Oncel T, Gulegen E, Senlık B, ve ark. Intestinal coccidiosis in angora rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) caused by *Eimeria intestinalis*, *Eimeria perforans* and *Eimeria coecicola*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2011; 22:27-29.
  12. Levine ND, Ivens V. Coccidia of the Leporidae. The Journal of Protozoology 1972; 19:572-581.
  13. Al-Saeed MH, Al Saeed AH, Jori MM. Study of physiological and histological changes in rabbits induced with hepatic coccidiosis. Journal University of Kerbala 2017; 15:217-228.
  14. Hassan KM, Arafa WM, Mousa WM, et al. Molecular diagnosis of *Eimeria stiedae* in hepatic tissue of experimentally infected rabbits. Experimental parasitology 2016; 169:1-5.
  15. Arafa MA, Wanas MQ. The efficacy of ivermectin in treating rabbits experimentally infected with *Eimeria* as indicated parasitologically and histologically. Journal of the Egyptian Society of Parasitology 1996; 26:373-380.
  16. Baker DG. Flynn's Parasitology of Laboratory Animals (2nd ed). Blackwell Publishing Company, Ames 2007; pp 451-501.
  17. Joyner LP, Catchpole J, Berrett S. *Eimeria stiedae* in rabbits. The demonstration of responses to chemotherapy. Research in Veterinary Science 1983; 34:64-67.
  18. El-Ghoneimy A, El-Shahawy I. Evaluation of amprolium and toltrazuril efficacy in controlling natural intestinal rabbit coccidiosis. Iranian journal of veterinary research 2017; 18:164-169.
  19. Sivajothi S, Reddy BS, Rayulu VC. Study on impression smears of hepatic coccidiosis in rabbits. Journal of Parasitic Diseases 2016; 40:906-909.
  20. Al-Quraishy S, Metwaly MS, Dkhil MA et al. Liver response of rabbits to *Eimeria coecicola* infections. Parasitology Research 2012; 110:901-911.
  21. Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspect of haematology. Fundamentals of Clinical Chemistry, NW Tietz (Ed), Saunders, Philadelphia 1987; pp 803-804.
  22. Abdel-Ghaffar F, Marzouk M, Ashour MB, et al. Effects of *Eimeria labbeana* and *E. stiedae* infection on the activity of some enzymes in the serum and liver of their hosts. Parasitology research 1990; 76:440-443.
  23. Gomez-Bautista M, Garcia MV, Rojo-Vazquez FA. The levels of total protein fractions in the serum of rabbits infected with *Eimeria stiedae*. Annales De Parasitologie Humaine Et Comparee 1986; 61:393-400.
  24. Karademir B, Ersan Y, Koç E, ve ark. Tavşanlarda Doğal Bağırsak Koksidiyozunda Bazı Serum Enzim ve Mineral Madde Düzeyleri Üzerine Etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2011; 22:67-70.
  25. Özkan O, Sarı B, Bayezit M, ve ark. Evcil Tavşanlarda *Thymus serpyllum*'ün Koksidiyozise Karşı Etkisi: Oosit Atılımı ve Canlı Ağırlık Değişimi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2010; 16:323-327.
  26. Çam Y, Atasever A, Eraslan G, et al. *Eimeria stiedae*: experimental infection in rabbits and the effect of treatment with toltrazuril and ivermectin. Experimental parasitology 2008; 119:164-172.
  27. Ütük AE, Pişkin FÇ, Balkaya İ, et al. Molecular detection of *Eimeria stiedae* in an Angora rabbit. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi 2015; 26:41-44.
  28. Levine ND, Ivens V. Coccidia of the Leporidae. The Journal of Protozoology 1972; 19: 572-581.
  29. Yakhchali M, Tehrani A. Eimeriidosis and pathological findings in New Zealand white rabbits. Journal of Biological Science 2007; 7:1488-1491.
  30. Singla LD, Juyal PD, Sandhu BS. Pathology and therapy in naturally *Eimeria stiedae*-infected rabbits. The Journal of Protozoology 2000; 4:185-191.