T.C
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

SAMSUN YÖRESİNDEKİ TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN REAL TİME PCR İLE ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Çağrı ASLAN

Danışman
Prof. Dr. Abdullah İNCİ

Yüksek Lisans Tezi

Ağustos 2017
KAYSERİ

T.C
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI

SAMSUN YÖRESİNDEKİ TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN REAL TİME PCR İLE ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Çağrı ASLAN

Danışman
Prof. Dr. Abdullah İNCİ

Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2016-6401 nolu proje ile desteklenmiştir.

Ağustos 2017
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Çağrı ASLAN

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"**Samsun Yöresindeki Tavuklarda *Eimeria* Türlerinin Real Time PCR ile Araştırılması**", Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan	**Danışman**
Çağrı ASLAN	**Prof. Dr. Abdullah İNCİ**

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Abdullah İNCİ

Prof. Dr. Abdullah İNCİ danışmanlığında **Çağrı ASLAN** tarafından hazırlanan "**Samsun Yöresindeki Tavuklarda *Eimeria* Türlerinin Real Time PCR ile Araştırılması**" konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Parazitoloji** Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

24/08/2017

JÜRİ : **İmza**

Danışman : Prof. Dr. Abdullah İNCİ (Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri)

Üye: Doç. Dr. G. Zafer PEKMEZCİ (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı, Samsun)

Üye: Doç. Dr. Önder DÜZLÜ (Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Kayseri)

ONAY

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

...../..../.....

Prof. Dr. Aykut ÖZDARENDELİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Başta tez konumun seçilmesinden çalışmalarımın yürütülmesine kadar her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda sonsuz desteğiyle gelişmeme katkıda bulunan Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli danışman hocam Prof. Dr. Abdullah İNCİ'ye en içten duygularımla teşekkür ederim.

Parazitoloji Anabilim Dalında çalışmaya başladığım günden bu yana desteğini gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. Alparslan YILDIRIM'a, laboratuvar çalışmalarında ve tez çalışması süresince her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim elemanları Doç. Dr. Önder DÜZLÜ, Yrd. Doç. Dr. Zuhal ÖNDER ve Araş. Gör. Dr. Arif ÇİLOĞLU'na, çalışma süresince malzeme bazında TYL-2016-6401 kodlu proje ile destek sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın her aşamasında birçok fedakârlıklar gösterip beni destekleyerek her an yanımda olan sevgili eşime ve yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için aileme teşekkürü borç bilirim.

SAMSUN YÖRESİNDEKİ TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN REAL TİME PCR İLE ARAŞTIRILMASI

Çağrı ASLAN
T.C. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Parazitoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2017
Danışman: Prof. Dr. Abdullah İNCİ

ÖZET

Bu çalışma, Samsun yöresinde salma tip (free-range) tavuk yetiştiriciliği yapılan çeşitli işletmelerdeki tavuklarda coccidiosis'e yol açan *Eimeria* türlerinin moleküler prevalansını ortaya koymak amacıyla planlanmıştır. Bu amaçla Eylül 2015 ve Mart 2016 tarihleri arasında, salma tip tavukçuluk işletmeciliği yapılan ve her biri yaklaşık 15000 adet Hubbard Isa Red Ja ırkı tavuk barındıran 11 kümesten tekniğine uygun olarak toplam 390 adet dışkı örneği toplanmıştır. Dışkı örnekleri laboratuvarda *Eimeria* ookistleri yönünden incelenmiş ve pozitif örneklerde gram dışkıdaki ookist sayısı (OPG) belirlenmiştir. *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen örneklere ait genomik DNA izolatları *Eimeria* türlerinin identifikasyonu için Real Time PCR analizlerine tabii tutulmuştur. İncelemesi yapılan dışkı örneklerinin 240'ı (%61,5) *Eimeria* ookistleri yönünden pozitif bulunmuştur. *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen 240 örneğin OPG değerlerinin 100,00 ile 300000,00 arasında değiştiği belirlenmiştir. Real Time PCR analiz sonuçlarına göre en yaygın tür %95,8 ile *E. tenella* olarak belirlenmiş bunu sırasıyla %83,3 ile *E. maxima*, %58,3 ile *E. acervulina* ve %4,1 ile *E. praecox* izlemiştir. Ayrıca incelemeye alınan 390 dışkı örneğinin 200'ü (%51,2) miks enfekte belirlenirken bu oran sadece pozitif örnekler baz alındığında %83,3 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak bu çalışma ile Samsun yöresindeki salma tip tavukçuluk işletmelerinde coccidiosis'e yol açan *Eimeria* türleri belirlenerek moleküler prevalansı ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Tavuk, Coccidiosis, Real Time PCR, Moleküler prevalans, Salma tip, Samsun

INVESTIGATION OF *EIMERIA* SPECIES IN CHICKENS IN SAMSUN REGION BY REAL TIME PCR

Çağrı ASLAN
Erciyes University, Graduate School of Health Science
Department of Veterinery Parasitology
M.Sc. Thesis, August 2017
Supervisor: Prof. Dr. Abdullah İNCİ

ABSTRACT

This study was conducted to determine the molecular prevalence of *Eimeria* species that cause coccidiosis in free-range chicken farms in Samsun district of Black Sea region in Turkey. For this aim, between September 2015 and March 2016, a total of 390 fecal samples were collected from 11 different free-range chicken farms that contain approximately 15000 Hubbard Isa Red Ja chickens. The collected fecal samples were investigated in terms of *Eimeria* ookists at the laboratory and the oocystes per gram of feces (OPG) were calculated in the positive samples. Real Time PCR analyses of the the samples were carried out on the genomic DNA isolates from the *Eimeria* oocytes positive samples in order to identification of *Eimeria* species. Two hundered forty (61.5%) out of examined fecal samples were found to be positive with *Eimeria* ooycstes. The OPG values of *Eimeria* oocytes positive fecal samples were determined between 100.00 and 300000.00. According to the results of Real Time PCR analyses, *E. tenella* was found to be the most prevalent species with the ratio of 95.8% and this was followed by *E. maxima, E. acervulina* and *E. praecox* with the ratios of 83.3%, 58.3%, 4.1%, respectively. Mix infections were determined in 200 (51.2%) of the 390 fecal samples and 83.3% of positive samples. In conclusion, the molecular prevalence of *Eimeria* species that cause coccidiosis in the free-range chicken farms in Samsun district were displayed with this study.

Key words: Chicken, Coccidiosis, Real Time PCR, Molecular prevalence, Free-range, Samsun

İÇİNDEKİLER

SAMSUN YÖRESİNDEKİ TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN REAL TİME PCR İLE ARAŞTIRILMASI

Sayfa

İÇ KAPAK i

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ..... **ii**

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI ..... **iii**

TEŞEKKÜR ..... **v**

ÖZET ..... **vi**

ABSTRACT ..... **vii**

İÇİNDEKİLER ..... **viii**

TABLOLAR LİSTESİ ..... **xi**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **xii**

1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**

2. GENEL BİLGİLER **3**

2.1. TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ 3

2.2. TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN MORFOLOJİLERİ 4

2.2.1. *Eimeria acervulina* Tyzzer, 1929 (Sinonim: *E. diminuta* Fernando ve Remmler, 1973) 4

2.2.2. *Eimeria brunetti* P.P. Levine, 1942 4

2.2.3. *Eimeria maxima* Tyzzer, 1929 (Sinonim: *Eimeria indendata*, *Eimeria tyzzeri*) 4

2.2.4. *Eimeria mitis*, Tyzzer 1929 (Sinonim *E. beachi*) 5

2.2.5. *E. necatrix* Johnson, 1930 5

2.2.6. *Eimeria praecox* Johnson, 1930 5

2.2.7. *Eimeria tenella* (Railliet and Lucet, 1891) Fantham, 1909 (Sinonim: *Eimeria avium, E. bracheti, Coccidium tenellum, C. globosum*)..... 5

2.3. TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN BİYOLOJİSİ..... 5

2.3.1. Merogoni (Eşeysiz Çoğalma, Şizogoni)..... 6

2.3.2. Gametogoni Dönemi (Eşeyli Çoğalma)..... 7

2.3.3. Ookist oluşumu..... 7

2.3.4. Sporogoni Dönemi (Eşeysiz Çoğalma)..... 7

2.3.5. *Eimeria acervulina*'nın Biyolojisi..... 8

2.3.6. *Eimeria brunetti*'nın Biyolojisi..... 8

2.3.7. *Eimeria maxima*'nın Biyolojisi..... 9

2.3.8. *Eimeria mitis*'nın Biyolojisi..... 9

2.3.9. *Eimeria necatrix*'nın Biyolojisi..... 9

2.3.10. *Eimeria praecox*'nın Biyolojisi..... 10

2.3.11. *Eimeria tenella*'nın Biyolojisi..... 10

2.4. TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN EPİDEMİYOLOJİSİ..... 11

2.5. TAVUK COCCIDIOSIS'İNDE KLİNİK VE PATOGENEZ..... 12

2.5.1. *Eimeria acervulina*'da Klinik Semptomlar ve Patogenez..... 12

2.5.2. *Eimeria brunetti*'de Klinik Semptomlar ve Patogenez..... 13

2.5.3. *Eimeria maxima*'da Klinik Semptomlar ve Patogenez..... 14

2.5.4. *Eimeria mitis*'de Klinik Semptomlar ve Patogenez..... 14

2.5.5. *Eimeria necatrix*'de Klinik Semptomlar ve Patogenez..... 14

2.5.6. *Eimeria praecox*'da Klinik Semptomlar ve Patogenez..... 15

2.5.7. *Eimeria tenella*'da Klinik Semptomlar ve Patogenez..... 15

2.6. TAVUK COCCIDIOSIS'İNDE TANI..... 17

2.6.1. Konvansiyonel Parazitolojik Tanı..... 17

2.6.2. Serolojik Tanı..... 18

2.6.3. Moleküler Tanı 18
2.7. TAVUK COCCIDIOSIS'İNDE İMMUNİTE 19
2.8. TAVUK COCCIDIOSIS'İNDE TEDAVİ, KORUNMA VE KONTROL 20
2.8.1. Sürü İdaresi 20
2.8.2. Anticoccidial Uygulaması 21
2.8.3. Aşılama 23
2.8.4. Alternatif Kontrol Metotları 26
3. GEREÇ VE YÖNTEM 27
3.1. SAHA ÇALIŞMALARI 27
3.1.1. Araştırma Sahası ve Dışkı Örneklerinin Toplanması 27
3.2. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI 28
3.2.1. Konvansiyonel Dışkı Muayenesi 28
3.2.2. Gram Dışkıdaki Ookist Sayısının (OPG) Belirlenmesi 29
3.2.3. Dışkı Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu 30
3.2.4. TaqMan Real Time PCR Analizleri 31
4. BULGULAR 33
4.1. KONVANSİYONEL DIŞKI MUAYENESİ SONUÇLARI 33
4.2. GRAM DIŞKIDAKİ OOKİST SAYISI (OPG) 36
4.3. TAQMAN REAL TİME PCR ANALİZ SONUÇLARI 42
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 47
6. KAYNAKLAR 56
ÖZGEÇMİŞ

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Tavuklarda *Eimeria* türlerinin taksonomideki yeri 3
Tablo 3.1. Real Time PCR analizlerinde kullanılan primer ve problar 31
Tablo 4.1. *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen örneklerin kümeslere göre dağılımı 35
Tablo 4.2. *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen örneklerde OPG değerlerinin kümeslere göre dağılımı 36
Tablo 4.3. Pozitif örneklerde saptanan *Eimeria* türleri ve prevalansları 42
Tablo 4.4. Miks enfeksiyonların prevalansı ve *Eimeria* türleri 43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. *Eimeria* spp.'nin hayat döngüsü 6
Şekil 2.2. Sporlanmış *Eimeria* ookisti 8
Şekil 3.1 Araştırma merkezi 27
Şekil 3.2. Dışkı örneklerini toplama 28
Şekil 3.3. Araştırma yöresinde toplanan dışkı örnekleri 28
Şekil 4.1. Dışkı örneklerinde *Eimeria* ookistleri 34
Şekil 4.2. *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen örneklerin kümeslere göre yüzdesel dağılımı 35
Şekil 4.3. Pozitif örneklerde *Eimeria* türlerinin dağılım grafiği 43
Şekil 4.4. Miks örneklerde *Eimeria* türlerinin dağılım grafiği 44
Şekil 4.5. *E. tenella* yönünden pozitif belirlenen bazı örneklerin Real Time PCR'da belirlenen amplifikasyon eğrileri 44
Şekil 4.6. *E. maxima* yönünden pozitif belirlenen bazı örneklerin Real Time PCR'da belirlenen amplifikasyon eğrileri 45
Şekil 4.7. *E. acervulina* yönünden pozitif belirlenen bazı örneklerin Real Time PCR'da belirlenen amplifikasyon eğrileri 45
Şekil 4.8. *E. praecox* yönünden pozitif belirlenen bazı örneklerin Real Time PCR'da belirlenen amplifikasyon eğrileri 45
Şekil 4.9. *E. brunetti*'nin Real Time PCR analizlerinde belirlenen amplifikasyon eğrileri 46
Şekil 4.10. *E. necatrix*'in Real Time PCR analizlerinde belirlenen amplifikasyon eğrileri 46
Şekil 4.11. *E. mitis*'in Real Time PCR analizlerinde belirlenen amplifikasyon eğrileri 46

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Türkiye'de 1930'lu yıllarda faaliyete geçen kanatlı üretim sektörü, günümüze kadar her geçen yıl daha da gelişerek hayvancılık alanında ülke ekonomisi için önemli bir yere sahip olmuştur. Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından rapor edilen verilere göre Türkiye'de etlik piliç üretimi yapan kümes sayısı 2006 yılında 11020 adet iken 2016 yılında 12534 adet olarak belirlenmiş ve yine ticari yumurta üretimi yapan kümes sayısı 2006 yılında 3284 iken 2016 yılında bu sayının 3616'ya yükseldiği kaydedilmiştir. Bunun yanında TUİK verilerine göre 2002 yılında 696187 ton olan tavuk eti üretiminin 2016 yılında toplam 1879018 ton olduğu; yumurta üretiminin ise milyon adet bazında 11555'den 18098'e yükseldiği görülmüştür. Ortalama 1,5 milyon kişinin geçimini sağladığı, yıllık cirosu yaklaşık 5,5 milyar dolar olarak hesaplanan, en hızlı gelişen ve en güçlü sektörlerden biri haline gelen kanatlı sektöründe ekonomik kayıplara sebebiyet verebilecek hastalıkların tespiti ve risk potansiyellerinin ortaya konması hayati önem taşımaktadır.

Tavuk coccidiosis'i tüm dünyada yaygınlık gösteren protozoer bir enfeksiyon olup tavukçuluk işletmelerinde yıllık 1,5 milyar doları aşan ekonomik zararlara yol açan sektörün en önemli hastalıklarından biri olarak halen önemini ve önceliğini korumaktadır. Türkiye'de de oldukça yüksek prevalans oranlarıyla seyreden bu hastalık ile ilgili etkin mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi ve koruma-kontrol programlarının yeni yaklaşımlar çerçevesinde geliştirilebilmesi için öncelikle hastalığa neden olan *Eimeria* türlerinin doğru olarak tanımlanması, üreme ve gelişmelerinin daha iyi anlaşılması ve bu kapsamda hastalığın ekoloji ve epidemiyolojisinin iyi bir şekilde çözümlenmesi gerekmektedir. Günümüze kadar dünyada kanatlı coccidiosis'ine yol açan türler üzerine yapılmış moleküler tabanlı araştırmaların çok sınırlıdır. Türkiye'de ise sadece tek bir çalışmanın mevcut olduğu dikkati çekmektedir. Bunun yanında son zamanlarda kanatlı sektöründe uygulanmaya başlanan farklı yetiştirme metotları ve

buna bağlı olarak değiştirilen işletme yapılarında da coccidiosis ile ilgili yeterli araştırmanın bulunmadığı görülmektedir.

Bu çalışmada, Samsun yöresinde salma tip (free-range) tavuk yetiştiriciliği yapılan çeşitli işletmelerdeki tavuklarda coccidiosis'e yol açan *Eimeria* türlerinin konvansiyonel parazitolojik metodların yanında moleküler tabanlı Real Time PCR teknikleri ile araştırılması ve hastalıktan sorumlu türlerin moleküler epidemiyolojisinin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Coccidiosis, dünya çapında yaygınlık gösteren protozoer bir enfeksiyondur (1, 2). Kanatlı yetiştiriciliğinde temel problemlerden biri olan coccidiosis, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanmayı azaltarak gelişme gerilemelerine yol açmakta ve böylece kümes hayvanları yetiştiriciliği yapılan yerlerde ekonomik kayıplara sebebiyet vermektedir (2). Son yıllarda anticoccidial ilaçların kullanılması ve hastalıktan koruma kontrol programlarının geliştirilmesine bağlı olarak bu ekonomik kayıplar azaltılsa da subklinik vakalar ve ilaçlara karşı oluşan direnç dolayısıyla kanatlılarda verim kayıpları devam etmektedir (kırmızı kitap). Bu nedenle de her geçen gün yeni anticoccidial etkenler araştırılmakta ve koruma kontrol yöntemleri bu araştırmalar kapsamında geliştirilmektedir (3-6). Coccidiosis, genetik, beslenme, yönetim ve kemoterapideki ilerleme ve gelişmelere rağmen, tavukçulukta en pahalı ve yaygın bir hastalık olarak yerini ve önemini korumaktadır (1, 2).

2.1. TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN TAKSONOMİSİ

Tavuklarda coccidiosis'e neden olan *Eimeria* türlerinin The Taxonomicon ile Systema Naturae 2000 ve son moleküler karakterizasyon çalışmalarına göre Tablo 2.1'de gösterildiği gibi sınıflandırılmıştır (7).

Tablo 2.1. Tavuklarda *Eimeria* türlerinin taksonomideki yeri

Sınıflandırma
Domain: Eukaryota Chatton, 1925 - eukaryotes
Kingdom: Chromista Caval.-Sm. (1981) - chromists
Süperfilum: Alveolata Cavalier-Smith, 1991
Infrafilum: Apicomplexa Levine, 1970
Sınıf: Coccidiomorphea Doflein, 1901
Takım: Eimeriida Léger, 1911
Aile: Eimeriidae Minchin, 1903
Soy: *Eimeria* Schneider, 1875
Tür: *E. acervulina*

E. brunetti *E. maxima* *E. mitis* *E. necatrix* *E. praecox* *E. tenella*

2.2. TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN MORFOLOJİLERİ

Tavuklarda coccidiosis'e neden olan 7 *Eimeria* türü bulunmaktadır. Eski yıllarda yapılmış çalışmalarda *E. hagani* ve *E. mivati*'nin tavuklarda coccidiosis'e neden olan *Eimeria* türlerine dahil edildiği görülse de son çalışmalarda *E. hagani*'nin ayrı bir tür olmadığı, *E. mivati* ve *E. mitis*'in ise sinonim oldukları ifade edilmiştir (2).

2.2.1. *Eimeria acervulina* Tyzzer, 1929 (Sinonim: *E. diminuta* Fernando ve Remmler, 1973)

Ookistleri ortalama 12-23 µm büyüklüğünde oval düzgün şekle sahiptirler. Mikropilsizdir. Ookist ve sporokist kalıntısı bulumazken, kutup granülü bulunur. Kutup granülü sporlanmamış evrelerinde bulunur. Sporokistler oval şekilde olup stieda cisimciğine sahiptir. Sporlanma 24 saatte tamamlanır (6, 8-10).

2.2.2. *Eimeria brunetti* P.P. Levine, 1942

Oval yapıdaki ookistler 14-34 x 12-26 (ortalama 23-35 x 19-20) µm büyüklüğünde olup, pürüzsüz ve ince bir duvara sahiptir. Mikropil ve ookist kalıntısı bulunmazken sporokist kalıntısı ve genellikle bir kutup granülü mevcuttur. Uzun, oval yapılı sporokistler 13 x 7,5 µm ölçülerinde olup, stieda cisimciğine sahiptirler (6, 10). Sporlanma süresi 18 saat-2 gün arasında değiŞir (10).

2.2.3. *Eimeria maxima* Tyzzer, 1929 (Sinonim: *Eimeria indendata*, *Eimeria tyzzeri*)

Ookist ölçüleri 21-42 x 16-30 µm büyüklüğünde, duvarı tek katlı, pürüzlü bir yapıya sahiptir (10). Mikropil bulunmayıp, kutup granülü bulunmaktadır (6, 10). Sporokistler 15-19 µm büyüklüğünde tavuk yumurtasına benzer ve stieda cisimciği bulunur. Sporozoitler saydam refraktil globüle sahip olup sporlanma süresi 30 saat ile 2 gün arasında değişmektedir (6, 10). Potasyum dikromat solüsyonu ile ookistlerin %60-90'ında yıkımlanmasına yol açarak sporlanmaya yol açacak tek bir ookist bulunmamaktadır (6).

2.2.4. *Eimeria mitis*, Tyzzer 1929 (Sinonim *E. beachi*)

Ookistler düzgün yapıda, renksiz duvara sahiptirler ve 10-21 x 9-18 µm büyüklüğündedir. Mikropil, ookist ve sporokist kalıntısı bulunmazken kutup granülü mevcuttur. Oval şekilli sporokistler 6 x 10 µm büyüklüğünde olup stieda cisimciğine sahiptir (6, 10). Sporlanma 18-48 saat arasında gerçekleşmektedir (10).

2.2.5. *E. necatrix* Johnson, 1930

Ookistleri ortalama 12-29 x 11-24 µm büyüklüğünde renksiz, oval ve mikropilsizdir. Sporokistler uzun oval yapılı, 9-15 x 4-8 µm ölçülerinde stieda cisimciği vardır (6). Sporozoitler yarım ay yapısında 7,9-11,3 x 1,3-2,1 µm büyüklüğünde refraktril globülün etrafını kaplar (6). Sporlanma süresi 18 saat ile 2 gün arasında değişir (10).

2.2.6. *Eimeria praecox* Johnson, 1930

Ookist ortalama 21 x 17 µm büyüklüğünde oval biçimdedir. Ookist duvarı iki katmanlı olup düzgün yapılı, renksizdir. Mikropilsiz ve sporokist kalıntısı içermez. Sporlanmış ookistlerde kutup granül bulunur. Sporlanma 24 saatte tamamlanır (6, 10).

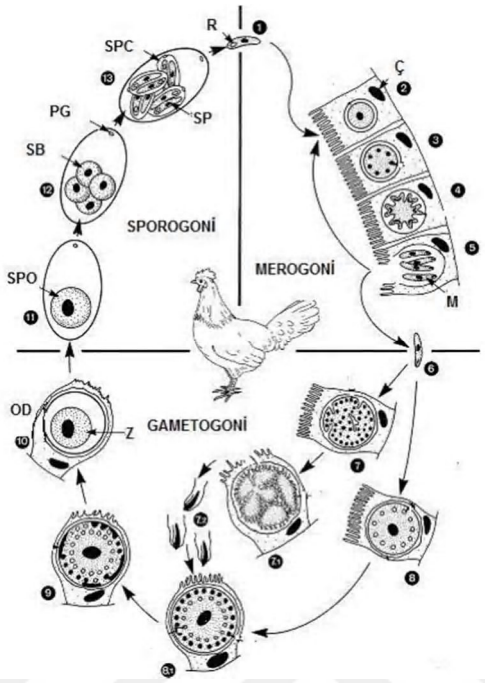
2.2.7. *Eimeria tenella* (Railliet and Lucet, 1891) Fantham, 1909 (Sinonim: *Eimeria avium, E. bracheti, Coccidium tenellum, C. globosum*)

Ookistler ortalama 14-31 µm büyüklükte, oval, mikropilsiz olup sporlanmış ookistler de kutup granülü bulunmaktadır. Sporokistler 7-11 µm uzunluğunda ve stieda cisimciği bulunmaktadır. Sporlanma 18 saat ile 2 gün arasında tamamlanır (6, 10). Prepatent süresi 6 gündür (10).

2.3. TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN BİYOLOJİSİ

Eimeria türlerindeki çoğalma, sporlanmış ookistlerle bulaşık yem ve içme sularının alınmasıyla oluşmaktadır. Coccidiosis'e neden olan *Eimeria* türlerinin yaşam döngüsünün şizogoni ve gametogoni evreleri konakta, sporogoni evresi ise doğada meydana gelir. *Eimeria* soyundaki türlerin hayat döngüsü 3 aşamadan oluşmaktadır: I- Merogoni (eşeysiz çoğalma, şizogoni); II- gametogoni (eşeyli çoğalma); III- sporogoni (eşeysiz çoğalma). Merogoni ve gametogoni dönemleri konağın bağırsak epitel hücreleri içerisinde, böbrek ve karaciğerde, sporogoni gelişme safhası ise konak dışında doğada geçer. Merogoni döneminde eşeysiz, gametogoni döneminde ise eşeyli üreme

gerçekleşerek parazit mitoz bölünmeye uğrar. Sporogoni döneminde mayoz bölünmeyle kromozom sayısı yarıya inmektedir (Şekil 2.1), (8, 11-14).



Şekil 2.1. *Eimeria* spp.'nin hayat döngüsü 1. Sporozoit 2. Merozoit 3-4-5. Birinci nesil meront gelişim evreleri 6. Merozoit 7. Çok çekirdekli mikrogametosit 7.1. Mikrogametosit 7.2. Mikrogametler 8. Tek çekirdekli makrogametosit 8.1. Makrogametosit 9-10. Fertilizasyon ve zigot oluşumu 11. Sporlanmamış ookist 12-13. Sporlanma ve sporlanmış ookist Ç: Hücre çekirdeği, M: Merozoit, OD: Ookist duvarı, SPO: Sporont, SB: Sporoblast, SPC: Sporokist, SP: Sporozoit, PG: Polar granül R: Refraktil globül (15)

2.3.1. Merogoni (Eşeysiz Çoğalma, Şizogoni)

Konak tavuk tarafından ağız yoluyla alınan sporlanmış ve enfektif duruma gelmiş *Eimeria* ookisti mideye ulaşır. Midede bulunan enzim, asit ve CO_2 sayesinde ookistin içinde bulunan sporokistin içine girerek sporozoitleri aktif hale getirir. Aktif duruma gelen sporozoitler hareketlilik kazanırlar. Aktif hareketle mideye oradan da duedenumdan ve bağırsaklara geçerler. Endotel hücrelerine girerek hücre çekirdeğinin alt kısmında gelişimlerini sürdürürler. Muz dilimi şeklindeki sporozoitler yuvarlak şekil alırlar. Bu şekildeki sporozoitlere "trofozoit" denir. (12, 16-18). Trofozoitler hücre içinde mitoz bölünme yoluyla birçok parçaya bölünerek büyüklükleri artar ve dağınık şekilde sitoplazmaya dağılır. Çok çekirdekli gelmiş olan parazite meront ya da schizont adı verilir. Meront tek çekirdekli sitoplazmaya sahip küçük organizmler oluştururlar. Bu yapılar zamanla uzayarak mekik şeklini alırlar. Bu yapılara merozoit adı verilir. Merozoitler, sitoplazma etrafına toplanarak aktivite kazanırlar ve sitoplazmadan ayrılırlar (8, 9, 19). Epitel hücresini parçalayarak bağırsak boşluğuna dökülerek tekrar

sağlam bağırsak epitel hücrelerine girerek siklusu yeniden başlatır ve devam eder. Bu şekilde ikinci nesil merontları oluştururlar. İkinci nesil merontların bölünmesi merozoitleri meydana getirirler. Merozoitler yeni sağlam bağırsak epitellerine girerek üçüncü nesil merontları oluştururlar (8).

2.3.2. Gametogoni Dönemi (Eşeyli Çoğalma)

Bağırsak boşluğuna dökülen merozoitler eşey hücrelerini meydana getirerek çekirdeği büyütür. Daha sonra sitoplazma büyüyerek bir takım glikojen granülleri oluşturur. Granüller büyür ve hücre sitoplazmasında halka şeklinde dizilir. Bu şekilde dişi hücreleri oluşturur. Buna makrogamet adı verilir. Diğer taraftan, bazı merozoitler farklılaşarak yuvarlak şekil alırlar. Daha sonra bunların çekirdekleri birçok parçaya bölünerek küçük glikojen granüller oluşur. Bu şekildeki merozoite mikrogametosit adı verilir. Mikrogametosit gelişimini sürdürerek çekirdek sayısı kadar parçalara ayrılır. Tek çekirdekli ve küresel mikroorganizmalar uzar, iki flagellumlu bir hale gelir. Bu mikroorganizmaların her birine mikrogamet adı verilir. Serbest hale gelen mikrogametler, makrogametleri içeren epitel hücrelerine girerek döllenmeyi meydana getirirler. Bu şekilde de zigot oluşur (20).

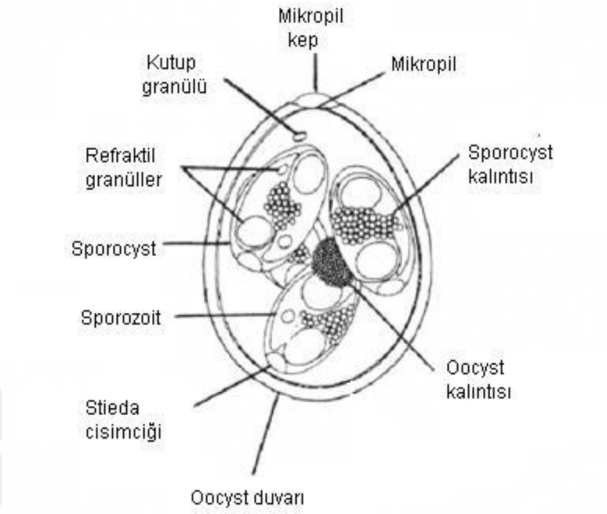
2.3.3. Ookist oluşumu

Epitel dokuda oluşan zigot, mukoproteinden oluşan granüller salgı salgılar ve dış etkenlere dayanıklı bir yapı meydana gelir. Bu yapıya ookist adı verilir. Ookist konak hücresini parçalayarak bağırsak boşluğuna dökülür ve böylece gametogoni sona erer. Oluşan ookistler dışkıyla dışarı atılır. Atılan ookist sayısı *Eimeria* türüne göre farklılık gösterebilir. Patojenite, ookist üretimin etkileyen faktörlerden biridir. Eğer tür patojense, ishal şekillenerek bağırsak peristaltiğini artırır. Bağırsak boşluğuna dökülen merozoitler epitel hücreye giremeden dışarı atılır. (21-25).

2.3.4. Sporogoni Dönemi (Eşeysiz Çoğalma)

Dışkıyla atılan ookistler, uygun çevre şartlarında sporogoni safhasını başlatırlar. Sporogoni için hava (O_2), ısı (20-24 °C), nem (%60-80) bulunan ortamlarda sporlanmaya başlar. Uygun çevre şartlarında, ookist içindeki zigot mitotik bölünmeyle çoğalır. Daha sonra zigot sitoplazması bölünerek iki tane protoplazma meydana gelir. Bunlara sporoblast adı verilir. Zigota da sporont denir. Her bir sporoblast çekirdeği

ikiye bölünerek ookistin içinde dört tane sporoblast oluşur. Sporoblast uzar ve oval şeklini alır. Mayoz bölünmeyle sporoblast ikiye bölünerek kromozom sayısını yarıya indirmiş olur. Oluşan yeni yapıya sporokist adı verilir. Sporlanmış ookist (Şekil 2.2) içinde sitoplazmanın tamamı kullanılmaz. Bunlara ookist kalıntısı denir (8, 9, 12).



Şekil 2.2. Sporlanmış *Eimeria* ookisti (26)

2.3.5. *Eimeria acervulina*'nın Biyolojisi

Sporozoitler duodenum mukozasını örten epitel hücrelerini istila ederek bağırsağın diğer bölümlerine yerleşir. Birinci nesil merontlar Lieberkühn bezlerine yerleşerek enfeksiyonun 36-48. Saatlerinde olgunlaşır. İkinci nesil merontlar Lieberkühn bezlerinin boyun bölümüne yerleşerek enfeksiyonun 45-60. saatlerinde olgunlaşarak 8 adet 5-6 µm uzunluğunda merozoitler içerirler. Dördüncü nesil merontlar villusların uç kısımlarına yerleşerek enfeksiyonun 80-96. saatlerinde olgunlaşarak 9-10 µm uzunluğunda merozoitler içerir. Prepatent süre 4 gün, patent süre ise daha uzun sürer (10).

2.3.6. *Eimeria brunetti*'nın Biyolojisi

Eimeria brunetti'nin sporozoit döneminin ince bağırsağın ön kısmında bazal membrana yakın, merogoni döneminin ise bağırsak bölümünün son kısımlarına doğru rektum ve kloakada bulunduğu belirtilmiştir (6). Birinci nesil merontlar ince bağırsağın orta bölümünde villus epitel hücrelerine yerleşir, 28 x 21 µm büyüklüğünde ve ortalama 320 merozoit bulunur. İkinci nesil merontlar ise villusların uç kısmında ve 15-120 merozoit

içerir. Üçüncü nesil merontlar 84. saatte oluşur ve inokulasyon sonrası 4. günde tamamlanır. Gametositler villusların yan yüzey ve uçlarında, konak çekirdeğin bazal membranında görülür. Gametositler ince bağırsağın posterior ile kalın bağırsak kısımlarında bulunur. Mikrogametositler, gelişme odağı içeren mikrogametler bulunur ve 25 x 22 µm boyutunda makrogametositlerden daha büyüktürler. Prepatent süre 5 gündür (6, 10).

2.3.7. *Eimeria maxima*'nın Biyolojisi

Etken daha çok duodenum epitel hücrelerinde yerleşim göstererek genellikle hücre çekirdeğinin üzerinde, eşeyli gelişim evrelerini çekirdekte meydana getirir. Çekirdeği hipertrofiye ederek epitel hücre genişler. Sporozoitler villusların epitel hücrelerine girerek ilk önce lamina propriada daha sonra makrofajlar tarafından bağırsak bezlerine ulaşır (6). İlk nesil merontlar 48 saat içinde duodenumdaki epitel hücrelerinde bulunur. İkinci nesil merontlar bağırsak epitel hücrelerinde, inokulasyonun üçüncü gününde 12 merozoit içerirler. Üçüncü nesil merontlar ince bağırsak villuslarının yan kısmında görülür. Patent süre yanlızca birkaç gündür (10).

2.3.8. *Eimeria mitis*'nın Biyolojisi

Etkene ince bağırsağın ön 1/3 kısmında villus epitel hücrelerinde rastlanır. Merontlar villus epitelinin hücre çekirdeğinde rastlanır. Merontalar enfeksiyonun 4. gününde 5-1,5 µm uzunluğunda merozoitler açığa çıkar (6, 9, 10). Gametositler enfeksiyonun 5-6. gün sonra ince bağırsağın sonunda epitel hücrelere yerleşir. Mikrogametositler 9-14 µm ölçülerindedir. Makrogametositler eozinofilik granülleri çevreler (6). Prepatent süre 4-5 gün, patent süre 10 gündür (9, 10).

2.3.9. *Eimeria necatrix*'nın Biyolojisi

İnce bağırsak lümenine yerleşen serbest sporozoitler epitel hücresinden içine girerek, epitel katmanını aşarak 12 saatte lamina propriaya ve villus merkezine ulaşır. Mukozanın kas katmanına ulaştıktan sonra çoğu sprozoit makrofaj tarafından yutularak fundus epitel hücrelerine ulaşırlar. Makrofajlar parçalandıktan sonra hasar görmemiş sporozoitler birinci nesil merontları oluşturmak üzere gelişimlerini devam ettirirler (6, 10). Birinci ve ikinci nesil merontlar, enfeksiyonun 36. saatine kadar epitel hücrelerin konak çekirdeğinde konumlanır. Birinci nesil merontlar 17,1 x 12,9 µm büyüklüğünde

muz benzeri yapıdadır. Bu merontlar 2-3 gün sonra serbest kalarak epitel hücrelerini istila eder. Böylece ikinci nesil merontları oluşturmak üzere gelişimlerini devam ettirirler. İkinci nesil merontlar konak hücresinde belirginleşerek dağılmaya başlar. 8-11 x 1,5-2 µm büyüklüğünde toplam 32-135 merozoit meydana gelir. Bu durum inokulasyon sonrası 5-8. günler arasında gerçekleşmesiyle birlikte 23. güne kadar uzayabilir. Sekuma geçen merozoitler epitel hücresine girerek konak çekirdeğine konumlanır ve üçüncü nesil merontları oluşturur. İkinci nesil merozoitler epitel hücrelerini ve derin bez epitel hücrelerinde bulunurlar. Üçüncü nesil merozoitler ise sekum mukozasının epitel hücrelerine girerek konak çekirdeğine yerleşir ve gametositleri oluşturur. Gametositler, konak hücrenin şişmesine ya da farklılaşmasına yol açar. Prepatent süre 6-7 gün, patent süre ise 12 günü bulabilmektedir (6, 10).

2.3.10. *Eimeria praecox*'nın Biyolojisi

İnce bağırsakta özellikle duodenal kısımda enfeksiyonun 16. saatinde epitel hücrelere girerek, lamina propriaya ulaşır. Merogoni sayısı 3 ya da 4 olarak belirtilmiştir. İkinci merogoni sonrasında eşeysiz ile eşeyli gelişme bir arada bulunur. Prepatent süre 2-4 gün, patent süre ise 4 gün sürer (6, 10).

2.3.11. *Eimeria tenella*'nın Biyolojisi

Tavuklarda sekum coccidiosisi'ne neden olur. İshal ve şiddetli kanamayla seyreden akut hastalık meydana getirir. Kursakta gerçekleşen mekanik etki ile sindirim kanalına alınan ookistler 1-2 saat içinde eksitasyona uğrar. Ookist duvarının parçalanmasıyla sporozoitler meydana gelir. Eksitasyona uğramayan sporlanmış ookistler dışkı ile atılarak tekrar enfeksiyon kaynağı oluşturur (6). Sporozoitler 12-13 µm uzunluğunda, hafifçe bükük şekle sahiptir. Sporozoitler, sekumdaki bazal membranı geçerek tunica propria katmanına ulaşarak makrofajlar içerisinde fundus bezlerinin epitel hücreleri içine yerleşir (10). Enfeksiyonun, ilk 24-48 saat içerisinde, şiddetine bağlı olarak mukoz membranlarda yangısal değişiklik meydana getirerek sekum bezlerinde 24 x 17 µm ölçülerinde birinci nesil merontlar gelişir. Konak hücre genişleyerek, büyüklüğünün beş katına hipertrofiye uğrar ve hücre sekum bezinde çıkıntı yapar. Merozoitler sekal lumende 4x1,15 µm ölçülerinde küçük ve orak benzeri yapılar meydana gelir (6, 10). Enfeksiyonun 4-5 gününde ortaya çıkan ikinci nesil merontlar 20-30 µm'den 50-55 µm büyüklüğüne ulaşarak konak hücrede genişleyerek, konak hücre epitellerine baskı

yapar. İkinci nesil meront aynı zamanda dağılarak kanama şekillenir. Çok sayıda merozoitler meydana getirir. Sekal içerikte çok sayıda bulunan merozoitler eradike edilir. Eradike edilmeyen merozotiler epitel hücrelere girerek gametositleri oluştururlar. Gametositlerin 9 x 7,6 µm uzunluğundadır. Bunlardan 6,8 x 1 µm büyüklüğünde merozoitler meydana gelir. İkinci nesil merozoitler girdikleri epitel hücrelerinde 12,4 x 8,7 µm büyüklüğünde mikrogametosit ve ookist, makrogametositi oluturmak için farklılaşır. Gametogoni enfeksiyonun sekizinci günde gerçekleşirken ookist atılımı dokuzuncu günde başlar (6, 8).

2.4. TAVUKLARDA *EIMERIA* TÜRLERİNİN EPİDEMİYOLOJİSİ

Etlik piliç yetiştiriciliğinin yapıldığı her işletmede *Eimeria* türlerine ve hastalığa rastlamak mümkündür (8). Hastalığın oluşumu üzerinde konağa, etkene, çevreye, bakım ve beslenme şartlarına, diğer hastalıklara ve strese bağlı faktörler etkilidir (27). Konağa ait faktörler ırk, yaş ve bağışıklık durumuna göre değişmektedir (28). Broyler yetiştiriciliğinde 3-6 haftalık civcivlerde, yumurta tavukçuluğunda ise 14-20 haftalık piliçlerde coccidiosis sorun oluşturmaktadır. Coccidiosis'de türe özgü bağışıklık gelişmektedir. Bağışıklığın süresi ile hastalığın epidemiyolojisi arasındaki ilişki önemlidir. *E. tenella* enfeksiyonlarında direnç çabuk geliştiği halde, *E. necatrix* ve *E. acervulina* enfeksiyonlarında uzun sürede gelişmektedir. Direncin yavaş geliştiği enfeksiyonlarda hastalığın yayılması daha kolay olmaktadır (27).

Hijyen eksikliği ve kalabalık barındırmalar altlıktaki ookist miktarının artmasına neden olmaktadır. Bu tip ortamlarda yetiştirilen duyarlı civcivlerin maruz kalacağı ookist sayısı daha fazla olmaktadır. Hastalığın oluşmasında *Eimeria* türünün patojenitesinin de rolü vardır. *E. necatrix*'in 200.000-400.000 ookisti ile enfekte edilen civcivlerin mortalite oranı %39 iken, *E. acervulina*'nın 1.000.000-2.000.000 ookisti ile enfekte edilenlerde bu oranın %1 olduğu gözlenmiştir (29).

Anticoccidial ilaçlar enfeksiyonu önlemede etkilidir. Fakat bağışıklık gelişimini baskılayabilmektedirler. Anticoccidial katkılı beslemeden sonra coccidiosis vakalarının artabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Klinik vakalar her ne kadar seyrek görülseler de subklinik coccidiosis sıklıkla gözlenmektedir. Bu durum, modern hayvancılıkta son trend olarak kabul edilen "Sürü Sağlığı" konsepti içinde son derece

kritik öneme sahiptir. Ayrıca bu durumun, yemden yararlanma oranının da azalmaya yol açması dolayısıyla ekonomik yönden de büyük önem taşıdığı bilinmektedir (30).

Enfeksiyonun oluşması için öncelikle duyarlı bireyler tarafından sporlanmış ookistlerin alınmış olması gerekmektedir. Ookistlerin doğada sporlanması ve enfektif hale gelmesi için sıcaklık, nem ve oksijen önemli faktörlerdir (31). Kümes içerisindeki yüksek sıcaklık, aydınlatma aksaklıkları, yetersiz havalandırma yem tüketimini azaltmakta ve strese neden olmaktadır. Coccidiosis epidemiyolojisini etkileyen bir diğer faktör mevsim olup özellikle sonbahar ve kış mevsimlerinde ani yem değişikliği, düşük sıcaklık, daha sıkışık ortamda bulunma gibi predispoze faktörler hastalığın çabuk ve kolay yayılmasına sebep olmaktadır (27).

2.5. TAVUK COCCIDIOSIS'İNDE KLİNİK VE PATOGENEZ

Tavuklarda coccidiosis, akut ve kronik olarak görülür. Akut coccidiosis çoğunlukla civcivlerde iştahsızlık, tüylerde bozulma, cloaca etrafında dışkı, kanlı dışkı en belirgin belirtileridir. Civcivlerin kursakları sıvı ile dolmuş ve genişlemiş durumdadır. Hayvanlarda kanat ve ayaklarda felçler şekillenmiş ve denge bozulmuştur. Hastalığa yakalanan civcivler 4-5 gün sonra yüksek oranda ölümler görülür (6, 10).

Kronik form da ileri yaşlı tavuklarda uzun süreli olarak görülür. Tavukların bağırsak mukozasında yaygın ulcus ve çok sayıda yıkıma uğramış dökülmüş hücreleri bulunan coccidiosis'li civcivlerde, harap olan doku parçalarının kokuşması veya parçalanması sonucu intoksikasyon görülür. Tavuklarda görülen her bir *Eimeria* türü, kendine özgü klinik belirti ve patolojik bozukluklar meydana getirmektedir (10).

Hasta tavuklarda ince bağırsaklar şişmiş, genişlemiş ve kontraksiyon yeteneğini kaybetmiştir. Mukozada peteşiler görülür. Hastalığı atlatanlarda bağırsak rejeneraasyonu çok zordur. Bağ dokunun üremesiyle nedbeler görülür. Bağırsak emme kabiliyetini kaybeder. Ölümler genellikle enfeksiyondan 5-7 gün sonra görülür (6, 8, 10).

2.5.1. *Eimeria acervulina*'da Klinik Semptomlar ve Patogenez

Genellikle bu tür, yanlızca hafif patojen olarak bilinir. Ancak milyonlarca sporlanmış ookist inokulum olarak verilirse, şiddetli klinik belirtilerin ortaya çıkmasına ve hatta

ölümlere sebep olabilir. Çok sayıda sporlanmış ookistlerin alınmasıyla bağırsaklarda kalınlaşma ve kataral eksudat görülebilir (10).

Eimeria acervulina çok fazla patojenik etkiye sahip olmamasına rağmen yüksek inokulasyon dozunda ölüm şekillenmesi mümkündür (10). *E. acervulina*'nın neden olduğu lezyonlar genellikle ince bağırsakta görülmekle birlikte kalın bağırsakta da görülebilir. Ortaya çıkan merozoitler bağırsak mukozasında işgal ederek gri-beyaz odaklar oluşturur. Seksüel evrede gelişen ookistler lezyonlar oluşturarak şiddetli enfeksiyonlara yol açar. Bağırsak hamur kıvamına gelerek mukoza da kızarıklık ve kataral eksudat görülür (6, 8, 10).

2.5.2. *Eimeria brunetti*'de Klinik Semptomlar ve Patogenez

E. brunetti genç tavuklarda ve yumurtacı tavuklarda görülmekle birlikte hayvanlarda kanlı dışkı, keyifsizlik, durgunluk ve kloaka etrafında kirlenme görülür. Dışkıda genellikle fibrin tabakası içerir ve kötü koku vardır. *E. tenella*'ya göre oranla bağırsakta hemoraji daha az görülür. Şiddetli olgularda hayvanlar 5-6 gün içinde ölüm şekillenir (6, 10). Bu tür hafif patojeniteye sahiptir. Patojenite enfeksiyonun derecesine göre değişir. Daha çok 4-9 haftalık civcivlerde tahribat yapar. Hafif enfeksiyonlarda büyük lezyonlar görülmeyebilir. Enfeksiyonun 4-5. günlerinde bağırsak duvarında kalınlaşma ve bağırsaklar da kanlı ve katharal bir eksudat görülür. Dışkı sulu ve hafif kan lekeleri ve mukus mukoza parçaları içerir. Bu belirtiler 5 gün boyunca devam eder ve sonraki günlerde hayvanlar hastalığı atlatırlar (6, 10).

E. brunetti'de makroskobik görünüm karakteristik olmakla birlikte sekum, rektum ve kloaka mukozasında iğne ucu kadar ya da daha büyük şekilde hemorajik alanlar bulunur. Bağırsak mukozası seroza boyunca hiperemik alanlar görül ve mukoza tabakası şişkin bir durumdadır. İleumdan kloakaya kadar olan bölümde rektum mukozasında kanama dalgalı görünüm oluşturmuştur. Rektal kanamalar sonucu mukoza şişmiş ve duvar belirgin bir hal almıştır. Kloaka mukozasında şişkinlik, hiperemi ve hemoraji görülür. Şiddetli olgularda nekrotik enteritis şekillenebilir (6, 10).

2.5.3. *Eimeria maxima*'da Klinik Semptomlar ve Patogenez

Eimeria maxima'nın kanatlılarda gösterdiği semptomlar diğer *Eimeria* etkenlerine benzer şekilde durgunluk, ishal, kilo kaybı, iştah azalması, kilo kaybı, bağırsakta konstipasyon, dışkıda kan ve anemi gibi belirtilerle seyretmektedir (6, 32).

E. maxima patojenitesi çok hafif bir türdür. Aseksüel dönemi çok hafif hasara neden olurken, seksüel dönemi çok ciddi tahribatlara sebebiyet verir (10). Etken sadece gençleri değil yaşlı tavukları da etkileyerek %30-35 ölüm meydana getirir (6).

E. maxima enfeksiyonlarında ince bağırsağın orta kısımında hemoraji görülür. Genellikle bağırsak şişkin, duvarı kalınlaşmış bir görünüm vardır. Mukoza da peteşiyel kanamalar görülür. İnce bağırsak kontraksiyon kabiliyetini kaybederek, kimi bölümlerde kalınlaşma görülür. İnce bağırsakta kataral enteritis vardır. Bağırsak mukoid grimsi, kahverengimsi, pembemsi renklerde kan pıhtılar bulunur. Tavuklar kısa sürede hastalığı atlatır ve kısa sürede normale dönerler (6, 10).

2.5.4. *Eimeria mitis*'de Klinik Semptomlar ve Patogenez

Eimeria mitis'in patojenitesi oldukça zayıftır. Enfekte tavukların bağırsak duvarında iğne başı duvarında iğne başı başı büyüklüğünde kanamalar meydana gelir. Tavuklarda enfeksiyona bağlı bir hastalık tablosu oluşmaz. Ancak bazı durumlarda yumurta veriminde azalma olmaktadır (6, 10).

2.5.5. *Eimeria necatrix*'de Klinik Semptomlar ve Patogenez

Eimeria necatrix, bir günlük civcivlerle birlikte 5-7 haftalık evcil tavuklar hastalığa duyarlıdır. Akut formda hastalığın belirtileri az ya da çok olmakla birlikte dışkı sulu ve kırmızımsı renktedir. Hastalığa yakalanan tavuklar genellikle bitkin, kamburlaşmış, uyuşuk ve kanatları düşmüş şekilde gözlemlenir. Bu görünümleri enfeksiyonun şiddetine göre 5-7. günlerde ölüm görülmektedir (6).

Eimeria necatrix, evcil tavukların *E. tenella* ile birlikte en patojen tür olarak kabul edilir. *E. necatrix*'in akut enfeksiyonları akut ölümlere yol açmaktadır. Hemorajik lezyonlar yavaş ilerleyen kronik hastalık tablosuna neden olmaktadır. Kronik hastalıklar enfeksiyonun yavaş gelişmesiyle birlikte yoğun nedbe dokusunu oluşturarak hastalık

etkilerinin daha etkli ve uzun kalmasını sağlamaktır. Bağırsaklarda oluşan nedbe dokusu fizyolojik işlevlerde aksama meydana getirir (6, 8, 10).

Enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak yangısal durum bağırsağın orta 1/3'lük kısmında ya da tüm bağırsak boyunca görülebilir. İkinci nesil merontları mukoza epitelinin derin katmanına yerleşerek bağırsağın seroza katmanında görülmesi mümkündür. (6, 10, 32). İnce bağırsakta mat beyaz renkte, çapı 1 mm'yi aşmayan küçük odaklar görülebilir. Bağırsak duvarı hastalığın 5-6. günlerinde kırmızı renkte, şişkinlikler görülür. Bağırsakta kanamalar meydana gelir ve içerik kırmızı rengi alır. Enfeksiyona bağlı olarak bağırsak lumenin de kan ve fibrin kalıntısıyla tıkanmış görülebilir (6, 10). Bağırsak parazit istilasına uğradığında bezlerden salınan enzimler ile kaslarda çözülme meydana geldiği düşünülmektedir. İnce bağırsağın genelinde peteşilyel kanamalar görünebilir. (8).

İnce bağırsağın yapısına mikroskop altında bakıldığında yangı hücreleri mukozayı kaplayarak epitel hücrelerinde değişime yol açarak bağırsak yapısı bölüm bölüm değişiklik gösterir. Mukoza epiteli glandular yapısı değişerek hücre kümeleşmeleri meydana gelir. Nekrotize ve genişlemiş olan epitel hücreleri bezlerde değişim, duodenum da kalınlaşma ve hemoraji odakları görülür. Rejenerasyon enfeksiyondan sonra 6 günde başlayarak ölü hücreleri ve fibrin, fibrositler yardımıyla ortadan kaldırılır. İyileşmeye bağlı olarak sekonder bakteriyel enfeksiyona bağlı nekrotitis veya bağ doku üremesiyle iyileşme görülebilir (6, 10, 32).

2.5.6. *Eimeria praecox*'da Klinik Semptomlar ve Patogenez

Patojenitesi düşük olan bu türle enfekte tavuklarda belirgin bir semptom görülmemektedir (6, 10).

2.5.7. *Eimeria tenella*'da Klinik Semptomlar ve Patogenez

Eimeria tenella'da ikinci nesil merontların geliştiği ve sekum'da kanama başladığı zaman enfekte tavuklarda klinik belirtiler ortaya çıkar. Enfeksiyondan dört gün sonra sekal duvarda şiddetli kanamalar şekillenir ve dışkıda kan izlerine rastlanır. Civcivlerde durgunluk, iştahsızlık, kanatlarda düşme, hareketsizlik görülür. Hayvanlarda çok az yem tüketmesine rağmen çok fazla su tüketirler. (6, 10, 32). Enfeksiyondan sonraki 9-10. günlerde atılan ookist sayısı en yüksek seviyeye çıkar ve reenfeksiyon olmazsa bundan

sonra ölümler görülmez ve genellikle iyileşirler. Ölüm şekillenmeyen durumlarda bacaklarda paraliz görülür, kan kaybına bağlı mukoza ve ibiklerde solgunluk belirginleşir. Hastalığın 9-10. gününe kadar hayatta kalan hayvanlarda iyileşmeler görülür (6, 10).

En patojen tür olan *E. tenella* sekum coccidiosisine yol açar. Genç hayvanlar ve civciclerde hastalık 4-5 haftallık yaştayken en fazla görülmekte ve 1-2 haftalık civcivler daha direçnlidir. Yaşlı tavuklarda daha önceki enfeksiyondan bağışıklığı gelişmiştir. *E. tenella* da enfeksiyonların seyri akut ve yüksek ölüm görülür. Hastalık etkeni stres durumun varlığına bağlı olarak alınan ookist dozu, hayvan ırkı, yaşı, konağın beslenme durumuna bağlı olarak değişmektedir. Genç sürülerde görülen şiddetli enfeksiyonlarda sürü kaybına ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır (6, 10).

Ölen civcivlerin nekropsisinde sekum ve bağırsak alanlarında etkileri görülür. İkinci nesil merontların olgunlaşmasıyla inokulasyandon sonraki 4-5.günlerde epitel katmanda dökülme, eozinofil sızıntısı, kan birikimi, sekumda kalınlaşma ve sekum mukozasında boyuna kanamalar görülür (10). Enfeksiyon şiddetine göre hemoraji sekal açılığa yakın yerlerde bulunan kalın bağırsağa yayılır. Beşinci ve altıncı günlerde epitel hücreler dökülür ve kanama daha da artarak sekumda yoğun bir kitle oluşturur. Sekumdaki bu kitle zamanla gevşeyerek lumende serbest hale gelir (10). Mukozadan ve sekal içerik numunelerinde merozoit yığınları mikroskop altında bakıldığında gametosit ve ookistlere rastlanabilir. Ookist oluşumunda sekumda duvarı kırmızıdan süt beyazı rengine döner. Lümendeki kitle kırmızımtrka renkten sarımsı veya beyazımsı renge döner. Lümendeki kitleler dışkıyla dışarı atılır ve devamında dokular rejenerasyona uğradığı için sekal duvar normal haline döner. Bazen yangısal reaksiyon ilerleyerek sekal ruptur meydana gelebilir (6, 10). Bağırsak duvarı kalınlaşarak şiddetli hemorajiler doku yıkımına yol açar. Mukoza epiteli birçok alanda ayrılarak intestinal içerik açığa çıkar. İkinci nesil merontlar lamina propriaya kadar ilerler ve hücresel bağışıklık reaksiyonu sonucu lenfoid hücreler, dev hücre infiltrasyonu, eozinofiller, plazma hücreleri görülür. Çok sayıda dev hücresi ortaya çıkmasıyla ve fibröz dokunun artması rejenerasyon meydana gelir. Büyük lezyonlarda bağırsak hareketiyle epitel onarımı gerçekleşir ve fibrozis görülür (6). Epitel katmanın iyileşmesi enfeksiyonun şiddetine bağlıdır. Yangısal tepkimeyle dev hücresi, lenfosit ve plazma hücreleri infiltrsayonuyla bağ doku artışı ve epitel dokunun yenilenmemesi sonucu kist oluşumları görülür.

Hastalık geçiren hayvanlarda 5-6 hafta sonra etkilerinden kurtulur ve verimlerinde %20-25 oranlarında azalma görülür (10).

2.6. TAVUK COCCIDIOSIS'İNDE TANI

2.6.1. Konvansiyonel Parazitolojik Tanı

Coccidiosis'te tanı, klinik ve histopatolojik bulgular ile dışkı muayenesine dayanmaktadır. Coccidiosis salgınlarında, sürüde normal formda olmayan dışkı, bitkin veya ölmek üzere olan hayvanlar, tüylerde karışıklık ve deride pigmentasyon kaybı gibi klinik bulgular gözlenmektedir. *E. tenella* ve *E. necatrix* vakalarında dışkı kanlı, *E. acervulina* ve *E. maxima* vakalarında ise mukuslu ishalle karaterizedir (13).

Rutin tanı dışkı örneklerinin ışık mikroskobu altında incelenmesi ile ookist varlığının belirlenmesine dayanmaktadır. Dışkıda bulunan ookist sayısını hesaplamak için modifiye McMaster yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem enfeksiyonun şiddeti hakkında bilgi verse de klinik enfeksiyonların teşhisinde tek başına yeterli olmamaktadır. En doğru teşhis ölen hayvanların patolojik bulguları ile yapılabilmektedir. Şüpheli bağırsak mukozasından alınan kazıntılardan coccidia etkenleri görülebilmektedir. Mukozal kazıntı lam üzerinde FTS (fizyolojik tuzlu su) ile muamele edilip lamel kullanılarak mikroskop altında incelenebilmektedir (10, 13). Hazırlanan preparatların incelenmesinde bol miktarda meront ve gamont görülmesi hastalığın kesin teşhisini sağlamaktadır (6).

Bazı *Eimeria* türlerinin patojen bazılarının da apatojen olmasında dolayı tür ayrımının yapılması gerekmektedir. Bazı türler sporlanmamış ookistlerin morfolojik özelliklerine bakılarak teşhis edilebilmelerine karşın, ookistlerin sporlandırılmasından sonra morfolojik özellikleri dikkate alınarak teşhis yapılması daha doğrudur. Klinik bulgularla birlikte ookist varlığının tespiti hastalık tanısı için yeterli olmayabilmektedir. Örneğin *E. tenella*'da ookist üretimi gerçekleşmeden ve ookistler dışkıyla atılmadan klinik coccidiosis bulguları ile karşılaşabileceğinden ookist varlığının saptanamadığı durumlarda coccidiosis olmadığı şeklinde teşhis yanlış olmaktadır (10). Kanatlı yetiştiriciliğinde canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranında azalmaya neden olan subklinik coccidiosis daha sık karşılaşılan bir durumdur (13).

Ookist atımının çok olduğu klinik olgularda bir parça dışkı ve FTS ile yapılacak nativ incelemede ookistlerin kolayca görülebileceği bildirilmiştir. Fakat ookistlerin zenginleştirilmesine dayalı yöntemler daha güvenilirdir. Bu yöntemler hafif olan *Eimeria* ookistlerinin yüksek özgül ağırlıklı sıvılarda yüzdürülerek, dışkıda bulunabilecek diğer partiküllerin uzaklaştırılması ve ookistlerin yoğunlaştırılması esasına dayanmaktadır. Kalitatif saptamada basit flotasyon yönteminden yararlanılabilmektedir (33). Flotasyon sıvısı olarak doymuş tuzlu su, doymuş şekerli su ve doymuş çinko sülfat ($ZnSO_4$) solüsyonu kullanılabilmektedir. Flotasyon yöntemleri ile *Eimeria* ookistlerinin dışkıda kalitatif veya kantitatif olarak saptanabilmesi mümkün olmaktadır (34).

2.6.2. Serolojik Tanı

Tavuklarda coccidiosis tanısında dışkı muayenesinde ookistlerin morfolojik yapılarının görülmesi ile konulan teşhis, dünyada halen geçerli altın standart tanı metotu olarak değerlendirilmektedir. Ancak teşhiste serolojik metotlar da kullanılmaktadır. Enzim linked immunoassay (ELISA) tanı ve araştırma amaçlı olarak kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir. Serolojik tanıda *Eimeria* türleri arasındaki ya da diğer patojenler ile oluşabilecek çapraz reaksiyonların göz önünde bulundurulması gerekmektedir (35, 36).

2.6.3. Moleküler Tanı

Coccidiosis etkenlerinin spesifik tanısının konması için rutin kontrollerin yapılması ve canlı aşı uygulamasının başarılı olduğundan emin olunması gereklidir. Konvansiyonel muayene yöntemleri ile tanıda özellikle ookist şekli ve ölçülerinin tür bazında değişiklik göstermesi ve miks olarak seyreden coccidiosis enfeksiyonlarında etkilenen bağırsak bölümlerindeki lezyonların karışabilmesi nedeneniyle son yıllarda moleküler ve biyokimyasal metotlar geliştirimiş böylece geleneksel tanı yöntemlerindeki sorunlar çözümlenmiştir (37). Bu kapsamda geliştirilen metotlar arasında Multilokus Enzim Elektroforezi, Southern Blot Tekniği, Değişken Alanlı Jel Elektroforezi (Pulsed Field Gel Electrophoresis, PGFE) ve İlişkili Metotlar, DNA Parmak İzi (DNA Fingerprinting) Tekniği, Amplifiye Parça Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP), Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Random Amplification of Polymorphic DNA, RAPD) ve Belirli Dizileri Çoğaltılan Bölgeler (Sequence-

characterized Amplified Regions, SCARs), Ribozomal DNA (rDNA) 'yı Hedef Alan Çalışmalar, PCR Temelli Manuel ve Yarı Otomatik Elektroforetik Metotlar, PCR ve Real Time PCR teknikleri bulunmaktadır (38-40).

Real-time PCR tekniği, hızı, sensitivite ve spesifitesi, seçiciliği, hedef patojen veya gen bölgesinin kantitatif olarak belirlenebilmesi, eş zamanlı hızlı teşhise olanak sağlaması, otomasyona uygun olması, mutasyon analizleri ve gen ekspresyonlarını hassas bir şekilde belirleyebilmesi gibi nedenlerle son yıllarda öne çıkan tekniklerin başında gelmiştir (41, 42). Farklı Real Time PCR teknikleri birçok farklı bilimsel alanda kullanılmakla birlikte kanatlı *Eimeria* türlerinin moleküler identifikasyonu ve kantitatif hesaplamalar için de son yıllarda yapılan çalışmalarda yüksek özgünlükte ve sıklıkla kullanılmaktadır (43-46).

2.7. TAVUK COCCIDIOSIS'İNDE İMMUNİTE

Coccidiosis etkenleri oldukça immunojenik karakterdedirler. Primer enfeksiyonu atlatan immun sistemi gelişmiş konakçılarda tekrarlayan enfeksiyonlara karşı bağışıklık gelişir (47). Bir *Eimeria* türüne karşı şekillenen bağışıklık, o konağın duyarlı olduğu diğer *Eimeria* türlerinin invazyon yeteneğinde azalmaya yol açar (48). *Eimeria* türlerine karşı konakda immun cevabı uyarmak için çok sayıda ookistin alınması gerekirken az sayıda *E. maxima*'nın konak immun sistemini uyardığı bildirilmiştir (28). Gelişme safhalarının erken dönemlerindeki formların (meront), seksüel safhadaki parazit formlarından daha immunojenik olduğu belirlenmiştir (49). *Eimeria* etkenine karşı genellikle genç hayvanlar duyarlıdırlar ve daha çok bunlarda akut hastalık tablosu görülmektedir. Bunun aksine yaşlı bireyler dirençlidirler (50). Hayvanlarda yaşın bağışıklıkla ilgili olmadığı ortaya konmuştur, enfeksiyon geçirmemiş yaşlı bir bireyin coccidiosis'e karşı bağışık olduğu söylenemez. Kafeslerde steril olarak yetiştirilmiş altı aylık piliçlerin *E. tenella*'ya karşı hassas olduğu bulunmuştur (51).

Coccidiosis'te spesifik antijenlerin rolü sınırlıdır ancak mukozal sekresyonda görev alırlar. IgY ve IgA enfeksiyondan bir hafta sonra saptanır ve 8-14. günlerde pik seviyeye ulaşır ve iki ay kadar varlığını sürdürür (52). Lillehoj (50)'un bildirdiğine göre bursektomi yapılan tavuklar coccidiosis'e karşı tam koruma göstermiştir bu da coccidiosis antikorlarının rolünün az olduğunu ortaya koymuştur. *In vitro* çalışmalarda sporozoit ve merozoitlerin fagositozisinde immun serumun arttığı gözlenmiştir (53).

Coccidiosis'de T hücrelerinin immun cevapta önemli rol oynadığı bildirilmiştir (54). Trout ve Lillehoj (55), $CD4^+$ ve sitokinlerin üretimi hakkında çalışmışlar, $CD4^+$ hücrelerinin azalmasının *E. acervulina* enfeksiyonunda herhangi bir etkisi olmadığı fakat *E. tenella* ile primer enfeksiyonlarda ookist üretiminde önemli derecede artış ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte $CD8^+$ hücrelerinde azalma *E. acervulina* enfeksiyonlarında ookist sayısında önemli derecede artışla sonuçlanmaktadır. $CD8^+$ T hücrelerinin coccidiosis'te etkileri henüz ortaya konulamamıştır. Fakat bu hücrelerin sayıca artmalarının etkenin enfekte ettiği epitel hücreleri ile direkt ilişkili olduğu, sekonder enfeksiyon sonrasında lezyonun oluştuğu bağırsak bölümündeki enfekte epitel hücreleri sitotoksik T hücreleri için hedef teşkil ettiği düşünülmektedir (55, 56).

Eimeria'lar konak içini ve konak dışını kapsayan karmaşık yaşam çemberine sahiptir. Konakta geçen safhada intraselüler ve ekstraselüler gelişme gösterirler ve bunlar seksüel ve aseksüel üreme dönemlerini içerir. İmmun sistem; sporozoitler penetrasyon için bir alan ararken ve epitele tutunmuşken, sporozoitler villus epitelindeyken ve lökositlerin içinde ve arasındayken ve lamina propria'dan kript epiteline geçerken *Eimeria* gelişimini baskılayabilmektedir (57).

2.8. TAVUK COCCIDIOSIS'İNDE TEDAVİ, KORUNMA VE KONTROL

Kanatlı yetiştiriciliğinde ekonomik açıdan önemli bir protozoon hastalığı olan coccidiosis'in kontrol altına alınmasında kemoterapi, immünolojik kontrol, dirençli konakçıların elde edilmesi ve hijyenik ortamın sağlanması gibi temel stratejiler uygulanmaktadır (58-60).

2.8.1. Sürü İdaresi

Coccidiosis etkenlerinin her yerde bulunmaları, kümes içinde kolayca yayılmaları ve yüksek üreme potansiyeline sahip olmaları gibi nedenlerle entansif ve ektansif tavuk işletmelerinde *Eimeria* etkenlerinden ari olarak yetiştiricilik yapılması mümkün değildir (59).

Monoksen bir hayat siklusuna sahip olan coccidiosis etkenlerinin kümesler arasında yayılmasında mekanik nakil önem taşır. İklim şartlarına ve dezenfektanlara karşı dirençli olan ookistler, toprakta haftalarca hatta aylarca canlı kalabilirken, fermentasyon

ya da dışkı kaynaklı amonyak nedeniyle oluşan sıcaklığa maruz kaldıklarında ise birkaç gün içinde canlılıklarını yitirirler (37).

Anticoccidial ilaçların keşfinden önce, hastalığın kontrolü amacıyla kümes altlığının değişimi ve dezenfeksiyon programları kullanılmıştır. Ancak ookistlerin dezenfektanlara karşı dirençli olmaları ve altlık değişse bile enfeksiyon başlatacak düzeyde ookist kalması nedeniyle başarılı sonuçlar elde edilememiştir. Hayvanların yerde yetiştirilmesindense ızgaralı kafeslerin kullanımı çözüm olarak denenmiş ve ookist alımını azaltmıştır. Ancak bu sefer, hayvanların göğüs bölgesinde yaraların oluşması, dışkının ya da ölü hayvanların çıkarılmasının zorluğu ve maddi nedenlerle ızgaralı kafesler kullanım alanı bulamamıştır (32).

Ookistlerin mekanik naklini engellemek için hijyen kurallarına önem verilmelidir. Kümesler arası geçişlerde kıyafetlerin değiştirilmesi ve botların yıkanması, rodentlerin ve artropodların eradikasyonu gibi önlemler alınmalıdır. Çiftlik idaresi etkili bir şekilde yürütülmeli, örneğin altlığa su dökülme oranını azaltan nipel sulukların kullanımı ve ookistlerin sporlanmasını olumsuz etkileyen kurutma işlemi gibi teknik konulara dikkat edilmelidir (37, 61).

2.8.2. Anticoccidial Uygulaması

Anticoccidial yem katkıları elli yılı aşkın süredir coccidiosis'ten korunmak veya önlemek amaçlı kullanılmaktadır. Allen ve Fetterer (61) ve Jeffers (62)'e göre anticoccidialler kimyasallar ve polieter iyonoforlar olarak sınıflandırılmıştır. Kimyasal anticoccidialler kimyasal sentez sonucu oluşan ve parazit metabolizmasına spesifik etki şekline sahip bileşiklerdir (amprolium, nikarbazin, diklazuril). Polieter iyonofor anticoccidialler ise *Streptomyces* ve *Actinomadura* fermentasyonu sonucu elde edilirler (salinomisin, monensin, lasalosid, narasin), iyon transportunu değiştirerek ve ozmotik balansı bozarak etki ederler (63). Modern, ticari kanatlı sektörünün gelişiminde anticoccidial ilaçların kullanımı büyük öneme sahiptir. Koruyucu tedavi olmadan, entansif yetiştiriciliğin yapılmasına imkânsız gözüyle bakılmaktadır (64). Koruyucu olarak anticoccidial ilaçların kullanılması durumunda coccidiosis kontrol altına alınabilir (65). Koruyucu tedavide temel amaç coccidiosis etkenlerine maruz kalan konaklarda klinik enfeksiyonları engellemek ve bağışıklık oluşumunu stimüle etmektir (66). Kanatlı sektöründe anticoccidial ajanların rolü 50 yıllık bir geçmişe dayanmakta

ve tüketiciye yüksek kalitede ürün sunulmasına olanak sağlamaktadır. Anticoccidial ajanlar; parazitin metabolizmasına etki edenler (amprolium, clopidol, decoquinate, halofuginone gibi) ve iyon taşınmasını-ozmotik basıncı bozanlar (monensin, lasalocid, salinomycin, narasin, maduramycin gibi polieter iyonoforlar) olarak sınıflandırılabilmektedir. Günümüzde ise coccidiosis'in kontrolü temel olarak polieter iyonofor anticoccidiallerin kullanımına dayanmaktadır (62).

Anticoccidialler genellikle birden fazla biyokimyasal etkiye sahiptirler. Fakat her kimyasal bileşiğin parazitin gelişme aşamasında uyguladığı etki kendine özgüdür. Birçok ilacın biyokimyasal etki şekli önemli bir kofaktöre bağlıdır. Örneğin, amprolium etken tarafından tiamin alımını engeller. Mitokondriyal fonksiyona etki edenler ilaçlar *Eimeria* türlerinin sitokrom sistemindeki enerji metabolizmasına engel olarak tesir ederler. Örneğin, kinolon ve klopidol, etkenin mitokondrisinde elektron metabolizmasına engel olur. İyonoforlar alkali metal katyonlarla (Na^+, K^+, Ca^+) lipofilik kompleksler oluşturarak, katyonları hücre membranından taşırlar. Hücre zarından katyonların taşınması sırasında osmotik hasar oluştururlar. *Eimeria* türlerinin ekstraselüler safhaları sırasında etkilidirler (63).

Anticoccidialler yem katkısı olarak iyi bir profilaksi sağlamakla birlikte uzun süreli kullanılmaları (iyonoforlar dahil olmak üzere) tüm anticoccidiallere dirençli *Eimeria* suşlarının ortaya çıkmasına sebep olmuştur (61, 67, 68). 1978 yılında *Eimeria* türlerinin bütün saha izolatları monensine duyarlı iken (69), 1986 yılında bu ilaca karşı direnç oluşmuştur (70). Halofuginona karşı direnç 1982 yılında söz konusu değilken, 1989 yılında %80 direnç oluşmuştur. İyi bir anticoccidial tedavi programının seçimi (mekik veya rotasyon), direnç oluşumunu yavaşlatmanın veya engellenmenin temelini oluşturmaktadır (65). Bunun yanında direnç, hızlı bir şekilde gelişebilir ya da polieter iyonoforlarda olduğu gibi birkaç yıl sürebilir (64, 71). Yoğun dozlarda ve sürekli anticoccidial kullanımı genetik seleksiyonda değişikliklere sebep olmaktadır. Ayrıca her kanatlı işletmesinde rastlanabilen *Eimeria* etkenleri yüksek üreme potansiyeli ve geniş genetik varyasyona sahip olmasıyla direnç gelişimine yol açmaktadır. *Eimeria* türlerinin yaşam çemberi kompleks yapıda olup seksüel ve aseksüel safhalardan oluşmaktadır. Aseksüel safhadaki nükleus, haploid komplement kromozomlardan oluşmakta olup çoğu anticoccidial ilaç bu haploid yapılara etki göstermektedir. Duyarlı karakterde olan çoğu yapı anticoccidialler tarafından yok edilirken bir kısmı ise dirençli hale

gelebilmektedir. Bunun sonucu olarak ise dominant özellikteki fenotiplerin popülasyonunda artış meydana gelmektedir (57, 64).

Tüm anticoccidial ajanlara karşı değişen derecelerde direnç geliştiği bilinmektedir (67, 68, 72). Direncin etkilerini en az seviyeye indirmek için kanatlı hayvan üreticileri farklı ajanların rotasyonla kullanılması, kimyasal maddelerle iyonoforların kullanılması ya da shuttle programlarının uygulanması gibi yöntemleri kullanmaktadır. Bu programların uygulanması mevsimsel koşullara ve *Eimeria* etkenlerinin prevalansına bağlıdır (59).

2.8.3. Aşılama

Klinik enfeksiyon oluşturmayacak sayıda alınan ookistler konakda immun sistemini uyararak koruyucu bağışıklık oluşmasını sağlamaktadır. *Eimeria* ookistlerine karşı şekillenen bağışıklık tür spesifiktir. Bir sürüde coccidiosis'e karşı tam bir bağışıklık oluşması için konakların *Eimeria* ookistlerinin hepsine maruz kalması gerekmektedir. Tavuklarda coccidiosis'e neden olan 7 *Eimeria* türünü içeren canlı ookist süspansiyonları içme suyu veya yemle civcivlere uygulanarak ookistleri almaları sağlanmakta ve koruyucu bağışıklık oluşturulmaya çalışılmaktadır (73). Değişik tiplerde aşı üretim çalışmaları devam etmekle birlikte ilerlemeler yavaş kaydedilmektedir (73-75).

Hafif enfeksiyonları atlatan bireyler daha yoğun ookist miktarı ile oluşabilecek yeni enfeksiyonlara bağışıktır (76). Attenüe ookistlerle oluşan enfeksiyonlara karşı immun yanıt şekillenir, bireyler tekrarlayan enfeksiyonlara karşı dirençli hale gelir (75).

Anticoccidiallere karşı direnç gelişimi (64, 77), kanatlı ürünlerindeki kalıntılar konusunda endişe uyandırmıştır (78, 79). Bazı anticoccidiallerin Avrupa Birliği tarafından yasaklanması (80) ile birlikte tüketicileri kemoterapötiklerden uzaklaşmaya sevk etmiştir. Günümüzde ticari aşılar bulunmakta olup, aşı geliştirme çalışmaları devam etmektedir (81).

Ticari olarak kullanılan dört adet aşı markası bulunmaktadır; non attenüe (Coccivac D/B ve Immucox) ve attenüe (Paracox ve Livacox) *Eimeria* türlerinden elde edilirler (59, 77, 81). Bu aşılardan Coccivac (82) ve Immuncox (83) canlı virulent ookistleri içermektedir. Paracox ve Livacox (84, 85) ise canlı attenüe ookistleri içermektedir (65, 81).

Aşılar yeme ya da suya katılarak bir haftalık yaştaki civcivlere verilmekle birlikte son zamanlarda bir günlük yaşta tek doz Coccivac D (64), Immuncox (86) ve Coccivac B (81) uygulanmaktadır. Bir günlük yaşta tek doz uygulama, altı haftalık yaşa kadar immuniteyi olabildiğince erken başlatmaktır. Ancak bazı çalışmalar bir günlük yaştaki civcivlerin bağışıklık sistemleri gelişmemiş olduğundan birinci günde aşılamanın güçlü bir bağışıklık sağlamayacağı yönündedir (87). Buna karşılık diğer çalışmalar bir günlük yaşta enfekte edilen civcivlerde etkin bir immunite şekillendiği yönündedir (64, 86). Hatta bazı araştırmacılar embriyoların bile fonksiyonel bir immun sisteme sahip olduklarını bildirmişlerdir (88).

Aşılama sonrası civcivler coccidiosis'e karşı korunmakta ve sonrasında ise altlıkta bulunan etkenlerle reenfeksiyon gelişmektedir. Buna bağlı olarak "trickle enfeksiyon" gelişimi görülmektedir (64, 86).

Mathis ve ark. (89) iyonoforlarla (salinomisin, lasalosid) *in ovo Eimeria* aşısını (Ivonocox-EM1) ilk kez birlikte denemişlerdir. İyonoforlarla aşının birlikte kullanımı performansı optimize ederek canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranında iyileşme sağlamakta, immunite oluşturarak ekonomik olarak da avantaj sağlanmaktadır.

Canlı aşılar yaklaşık elli yılı aşkın bir süredir coccidiosis kontrolünde sınırlı seviyelerde de olsa kullanılmaktadır. Etkinlikleri, ilk başta verilen düşük dozdaki ookistlerin yeniden kullanımına ve sonrasında tam bir bağışıklığın oluşmasına bağlıdır. Öncelikli olarak damızlıklarda ve yerde yetiştirilen sürülerde kullanılmakla birlikte broylerlerde de kullanımı artmaktadır (61). Canlı aşılar virülent ya da attenüe *Eimeria* suşlarını içermektedir (59).

Virülent aşılar doğal patojeniteleri herhangi bir değişikliğe uğratılmamış laboratuvar veya saha suşlarını içermektedir. Coccivac, Immucox, Inovocox, Advent gibi virülent aşılar kullanılmaktadır (90). Konak bağışıklığı *Eimeria* türüne spesifik olduğundan dolayı aşıların etkili olabilmesi için belli türleri (çoğunlukla 3-7 tür) içermesi gerekmektedir (37). Canlı virülent aşıların etkinliğinin, aşının alınma şekli ile ilgili olduğu belirtilmiştir. Ookistlerin birkaç defa az sayıda verilmesiyle enfekte edilen tavuklarda meydana gelen ookist üretimi, aynı miktarda ookistin tek seferde verilmesiyle enfekte edilenlere göre daha uzun olduğu ve iyi derecede bağışıklık oluşturduğu bildirilmiştir (73). Altlık yüksek oranda ookist ile kontamine olmadan önce,

kontrollü olarak düşük dozda virülent ookist verilerek, hayvanlarda koruyucu bağışıklık oluşturulması amaçlanmaktadır (37). Canlı virülent aşıların sürü içinde her bireyde bağışıklık oluşturmaması, muhafazasının zor olması, altlıkta ookistlerin fazla miktarda birikmesi sonucu salgınların meydana gelmesi gibi sakıncaları da vardır (73). Kümes zemininde fazla miktarda birikme riskinden dolayı etlik piliçlerde aşılama sonrası CAA'da azalma gibi problemlere neden olacağı ve etlik piliçlerin 6 hafta gibi kısa bir sürede bunu telafi edemeyecekleri bildirilmiştir (59).

Canlı attenüe aşılar patojeniteleri azaltılmış *Eimeria* spp. suşları içermektedir. Virülent *Eimeria* spp. ookistleri, *in vivo* embriyo pasajı, gelişimini erken tamamlayan soyların (precocious) seçimi, canlı virülent ookistlerin X ışınları ile radyasyona ve elektromanyetik dalgalara maruz bırakılması ile attenüe edilebilmektedir (73). Paracox (biyolojik gelişimini erken tamamlayan suşlar, precocious) ve Livacox (precocious ve embriyolu tavuk yumurtasında pasajlanmış suşlar) attenüe canlı aşılardır. En iyi attenüasyonun seçilmiş precocious soyların üretilmesi ile olduğu bildirilmiştir. Precocious suşlar virülent *Eimeria* ookistlerinin civciv embriyosundaki tekrarlanan pasajlardan sonra meydana gelen ookistlerin seçimi ile elde edilmektedir (59, 91). Precocius suşların attenüe ookistlerinin üreme potansiyellerinin düşük olması ve az sayıda ookist üretmeleri ticari anlamda geniş ölçekte aşı olarak kullanılmalarına olanak sağlamıştır (73).

Attenüe suşlar, virülent suşlardan daha az üreme potansiyeline sahiptirler ve mukozal yüzeyde en az doku hasarına sebep olarak optimum bağışıklık sağlamaktadırlar. Canlı attenüe aşıların içerdikleri suşların hepsi ilaçlara karşı duyarlılık göstermektedir. Anticoccidial ilaçların yararlı olacağı periyodu uzatmak için anticoccidialler canlı aşı uygulamaları ile rotasyon şeklinde kullanılabilmektedir (59).

Enfeksiyon etkenlerinin, immunojenik olan yüzey proteinlerini, antijenik determinantlarını, virülens faktörlerini ve toksinlerini kodlayan genlerin, hücre içinde veya konakçı bir hayvanda klonlanması ve genin ekspresyonu sonucu elde edilen gen ürünlerinin aşı olarak kullanılması rekombinant DNA aşılarının temelini oluşturmaktadır. Üzerinde yoğun çalışılan bir konu olmasına karşın rekombinant aşılar başarılı olarak kullanılmamaktadır (61). Son olarak geliştirilen CoxAbic ticari olarak kullanıma sunulmuştur (92).

2.8.4. Alternatif Kontrol Metotları

Anticoccidiallerin profilaksi ve tedavi amaçlı kullanımı kanatlı endüstrisinde başarı sağlamada en önemli faktördür. Fakat anticoccidiallerin yaygın kullanımları direnç gelişimine sebep olmaktadır (71). Direnç gelişiminden kaçınmak için yapılabilecek uygulamalar shuttle programları ve rotasyondur (71, 93). Fakat tüketicilerin kemoterapötiklerden uzak durmak istemesi, yüksek maliyet ve beklenen faydanın sağlanamaması sonucunda ilaç endüstrisi anticoccidiallere alternatif olabilecek yeni ürün arayışlarına girmiştir (93). Büyüme destekleyici antibiyotiklerin yasaklanması ile birlikte Avrupa Birliği tarafından anticoccidiallere karşı da soru işaretleri oluşmuştur (94). Bu tartışmalar anticoccidiallerin yerine geçebilecek yeni metotların bulunması hususunda araştırılmaya gidilmesi ihtiyacı doğurmuştur (95, 96). Bu kapsamda probiyotikler, prebiyotikler, vitaminler, mineraller ve betain üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır (97-101).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. SAHA ÇALIŞMALARI

3.1.1. Araştırma Sahası ve Dışkı Örneklerinin Toplanması

Çalışmanın materyalini, Eylül 2015 ve Mart 2016 tarihleri arasında, Samsun yöresinde salma tip (free-range) tavukçuluk işletmeciliği (Şekil 3.1) yapılan ve herbiri yaklaşık 15000 adet Hubbard Isa Red Ja ırkı tavuk barındıran 11 kümesten tekniğine uygun olarak toplanan 390 adet dışkı örneği oluşturmuştur (Şekil 3.2). Kümeslerin farklı noktalarından pens yardımıyla alınan dışkı örnekleri steril dışkı kaplarına aktarılmış ve protokol kayıtları yapılarak soğuk zincirde laboratuvara intikalleri sağlanmıştır.

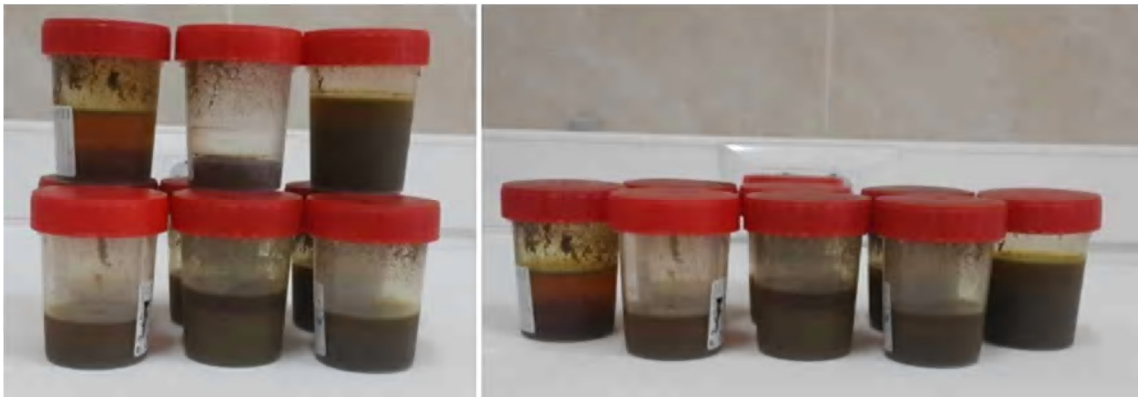


Şekil 3.1 Araştırma merkezi



Şekil 3.2. Dışkı örneklerini toplama

Örneklenen dışkı numuneleri 180 ml steril dışkı kabı içerisine %2,5 w/v potassium dichromate ile 2/1 oranında (100 ml potassium dichromate/50 gr dışkı örneği) karıştırılarak konulmuştur (102). Aynı örneklerin kalan kısımları ise sulandırılmadan direkt olarak ayrı steril bir dışkı kabı içerisine alınmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Araştırma yöresinde toplanan dışkı örnekleri

3.2. LABORATUVAR ÇALIŞMALARI

3.2.1. Konvansiyonel Dışkı Muayenesi

Laboratuvara getirilen örnekler *Eimeria* ookistleri yönünden analize tabii tutulmuştur. Öncelikle dışkı örneklerinden 3 gr tartılmış ve doymuş şekerli su (Sheather'ın şeker

solüsyonu), (spesifik gravite: 1,27), (102) ile homojen hale getirilerek steril gazlı bezler yardımıyla 50 ml falcon tüplerine süzülmüştür. Tüpler üzerine lamel kapatılarak 1500 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş sonrasında oda ısısında 5 dk beklenerek lameller lam üzerine alınıp ışık mikroskobunda ookistler yönünden incelenmiştir. İnceleme esnasında tüpler üzerine tekrar lamel kapatılarak 5-10 dk beklenmiş ve akabinde ikinci lamel de incelemeye tabii tutulmuştur.

Potassium dichromatlı örneklerin incelenmesinde Gajadhar (103) tarafından bildirilen yöntemin modifiye edilmiş versiyonu kullanılmıştır. Eşit hacimde dışkı numunesi olmak üzere potassium dichromatlı örneklerden 9 ml alınarak steril gazlı bezler yardımıyla 50ml falcon tüplerine süzülmüş ve üzeri deiyonize su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Tüpler 4000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda tüpte 2 ml sediment bırakılarak süpernatant dikkatlice atılmıştır. Yıkama işlemi aynen bir kez daha tekrar edilmiş ve falcon tüp içerisindeki 2 ml sediment homojen hale getirilip 15ml santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler yüzeyine kadar doymuş şekerli su ile doldurulmuş, bombe oluşturularak lamel kapatılmıştır. 1500 rpm'de 10 dk santrifüje tabii tutulan tüpler üzerinden, lamel altındaki damla düşürülmeden alınarak ışık mikroskobu altında incelemeye tabii tutulmuştur. İnceleme süresince tüpler üzerine tekrar lamel kapatılarak 5-10 dk beklenmiş ve akabinde ikinci lamel de incelemeye tabii tutulmuştur.

3.2.2. Gram Dışkıdaki Ookist Sayısının (OPG) Belirlenmesi

Eimeria ookistleri yönünden pozitif bulunan dışkı örneklerinde gram dışkıdaki ookist sayısının (OPG) belirlenmesinde Velkers ve ark. (104) tarafından tarif edilen tekniğin modifiye edilmiş versiyonu kullanılmıştır. Bu kapsamda, 6 ml potasyum dicromatlı dışkı örneği 50 ml falcon tüp içerisine alınmış, üzerine 20 ml doymuş tuzlu su (151 g/l, specific gravity 1,1) ilave edilerek homojen hale getirilmiştir. Bu tüpten 2 ml alınarak kapaklı plastik santrifüj tüplerine konulup üzerine 8 ml doymuş tuzlu su (311 g/l, specific gravity 1,2) ilave edilerek karıştırılmıştır. Buradan pipet ile McMaster lamının iki gözü doldurularak en az 5 dk beklenmiş ve ookist sayımı her iki gözde yapılmıştır. Gram dışkıdaki ookist sayısı (OPG): 333.3ab/örnek miktarı formülüyle belirlenmiştir (a: Ookist sayısı; b: Sulandırma katsayısı; örnek miktarı 2 gr; pozitif örneklerde sayım kamerasında ookist saptanmaması durumunda OPG değeri 50 alınmıştır).

3.2.3. Dışkı Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu

Eimeria oocytleriyle pozitif belirlenen dışkı örneklerinden genomik DNA izolasyonunda Lalonde ve Gajadhar (105) tarafından bildirilen tekniğin modifiye edilmiş versiyonu kullanılmıştır. Sporlandırılmış ve mikroskobik analizleri yapılmış örneklerden alınan yaklaşık 15 ml potasyum dichromatlı süspansiyon (~5 gr dışkı örneği) steril gazlı bezler yardımıyla 50 ml steril falcon tüplere süzülmüş ve üzeri steril deiyonize su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Tüpler 4500 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası dipteki tortu oynatılmadan süpernatant atılmış ve tüpler tekrar 50 ml steril deiyonize su ile tamamlanarak santrifüj işlemi aynen tekrar edilmiştir. Son santrifüjden sonra süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra tortu üzerine 10 ml steril doymuş şekerli su (Sheather'ın şeker solüsyonu; spesifik gravite: 1,27) ilave edilerek tortu çözdürülmüş ve homojen hale getirilmiştir. Süspansiyon daha sonra 15 ml santrifüj tüplerine aktarılmış ve doymuş şekerli su ile toplam hacim 15 ml'ye tamamlanmıştır. Tüpler 1500 rpm'de10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında tüpler üzerinde doymuş şekerli su ile bombe oluşturularak lamel kapatılmış ve maksimum yoğunlaşma için 10 dk oda ısısında bekletilmiştir. Süre sonunda lamel kaldırılarak altındaki damla steril deiyonize su ile (toplam hacim 150 µl) 2 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine yıkanmıştır. Yıkama işlemleri sırasında tüplerin üzeri tekrar lamel ile kapatılmış ve 5 dk süre ile beklendikten sonra aynı hacimde aynı ependorf tüpler içerisine yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Ependorf tüpler steril deiyonize su ile 2 ml'ye tamamlanarak ultra santrifüjde 15300 rpm'de 3 dk santrifüj edilerek ookistlerin çökmesi sağlanmıştır. Santrifüj işlemi sonrasında dikkatlice süpernatant uzaklaştırılarak ependorf tüp içerisinde 120 µl hacimde ookist süspansiyonu bırakılmıştır. Genomik DNA izolasyonuna geçmeden önce her bir örneğe ait ookist süspansiyonu spin-vortekslenerek homojenize hale getirildikten sonra 10'ar µl iki kez örnek alınarak lam lamel arasında ışık mikroskobunda ookistlerin varlığı yönünden konfirme edilmiş ve ookist sayımı yapılmıştır. Sonraki basamakta, elde edilen ookist süspansiyonları 0,5 mm glass beads ile 5 dk homojenizatörde (Tissue Lyser LT; Qiagen) mekanik parçalanmaya tabii tutulmuştur. Sonrasında tüpler birer dakika olmak üzere 8 siklus sıvı azot ve kaynar suda tutularak ookistlerin parçalanması sağlanmıştır. Daha sonra süspansiyon genomik DNA ekstraksiyon kitleri (GeneJET Genomic DNA Purification Kit, Thermo Scientific; QIAamp DNA Micro Kit, Qiagen) ile DNA ekstraksiyonuna basamaklar modifiye edilerek alınmıştır. Final basamakta elüsyon 30 µl'ye ayarlanmıştır. Elde edilen

genomik DNA ekstraktlarından alınan örnekler Qubit® Fluorometric Quantitation (Life Technologies) cihazında işlenerek DNA izolasyon etkinliği ve total genomik DNA miktarları (ng/µl) belirlenmiştir. Örneklere ait genomik DNA'lar kullanılana kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.4. TaqMan Real Time PCR Analizleri

Eimeria ookistleri ile pozitif belirlenen dışkı örneklerinden elde edilmiş genomik DNA izolatlarında, tavuklarda coccidiosise yol açan *E. acervulina, E. brunetti, E. maxima, E. mitis, E. necatrix, E. praecox ve E. tenella'*nın Real Time PCR'da identifikasyonları için korunmuş ITS-2 gen bölgesinden dizayn edilmiş forward primerleri ile tüm *Eimeria* türleri için ortak 28S rRNA gen bölgesinin 5' ucundan dizayn edilmiş reverse primeri ve ITS-2 gen bölgesine özgü TaqMan problar (Tablo 3.1) kullanılmıştır (106).

Tablo 3.1. Real Time PCR analizlerinde kullanılan primer ve problar

***Eimeria* türü**	**Primer/Prob**		**Dizilimi (5'---3')**
E. acervulina	Primer	Emaac-ITS2F	CCTTTCGTYCAYGRAAGAGAT
		E-28SR	CTCGMCTGATTTCAGGTCTA
	Prob	ace	FAM- CACTGGTGTATATCTCGAAAT -BHQ1
E. brunetti	Primer	Ebrac-ITS2F	CCTTTCGTCCAYGAAAGAGATA
		E-28SR	CTCGMCTGATTTCAGGTCTA
	Prob	bru	FAM-AGTGCTACTGGTGGATAT-BHQ1
E. maxima	Primer	Emaac-ITS2F	CCTTTCGTYCAYGRAAGAGAT
		E-28SR	CTCGMCTGATTTCAGGTCTA
	Prob	max	FAM- TGTACTACTGAATTGTATCTCGGA-BHQ1
E. mitis	Primer	Eprmi-ITS2F	CCYTTCGTTHAYGRAAGAGAT
		E-28SR	CTCGMCTGATTTCAGGTCTA
	Prob	mit	FAM- TTTTCCTGTTGTGAGTTGTGTGT-BHQ1
E. necatrix	Primer	Etene-ITS2F	TATGSTCCTTTCATTCBGAAAGAGA
		E-28SR	CTCGMCTGATTTCAGGTCTA
	Prob	nec	FAM- AATACGCACAGCACATGT-BHQ1
E. praecox	Primer	Eprmi-ITS2F	CCYTTCGTTHAYGRAAGAGAT
		E-28SR	CTCGMCTGATTTCAGGTCTA
	Prob	pra	AATGAACGATTCTAGCATGCA
E. tenella	Primer	Etene-ITS2F	TATGSTCCTTTCATTCBGAAAGAGA
		E-28SR	CTCGMCTGATTTCAGGTCTA
	Prob	ten	AATGTTTTGAGCAGGGCTA

Real Time PCR testinin geçerliliğinin ve herhangi bir kontaminasyonun olup olmadığının kontrolü amacıyla her qPCR analizinde pozitif kontrol olarak Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuarında mevcut olan izolatlar, negatif kontrol olarak ise sterilize edilmiş deiyonize su kullanılmıştır. Real Time PCR analizleri CFX Connect (BioRad, USA) cihazında gerçekleştirilmiştir. PCR master mix (Luminaris Color Probe Low ROX qPCR Master Mix, Thermo Scientific) üreticinin açıklamalarına göre toplam 20 µl hacimde aşağıdaki konsantrasyonlarda hazırlanmıştır.

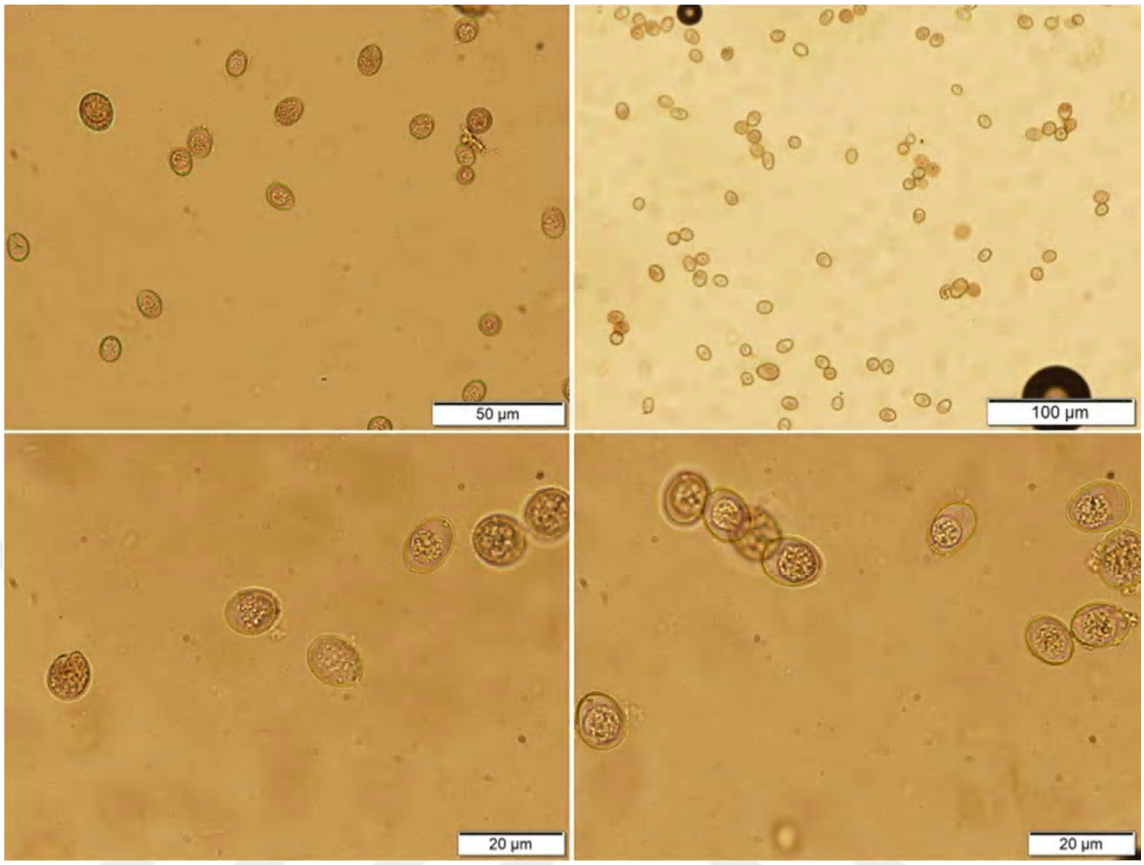
2X Master Mix	10 µl
Forward primer (10 µM)	0,6 µl
Reverse primer (10 µM)	0,6 µl
Probe (10 µM)	0,4 µl
Genomik DNA (50 ngr)	1,0 µl
PCR Grade Deiyonize su	7,4 µl

TaqMan prob tabanlı Real Time PCR amplifikasyonu için termal profil 95 ºC 2dk 1 siklus, 95 ºC 10dk 1 siklus ve 45 siklus 95 ºC 15 sn, 58 ºC 20 sn, 68 ºC 20 sn olarak ayarlanmıştır (106). Real Time PCR analizi sonunda örneklerdeki pozitiflikler ve kantitatif değerler, amplifikasyon eğrileri ve Ct (dR) (Eşik değer siklusu) verilerine göre hesaplanmış ve değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. KONVANSİYONEL DIŞKI MUAYENESİ SONUÇLARI

Konvansiyonel dışkı muayenesi sonucunda, incelemesi yapılan toplam 390 örneğin 240'ı (%61,5) *Eimeria* ookistleri yönünden pozitif bulunmuştur. Örnek toplanan 11 kümesin ise tamamında *Eimeria* türleri tespit edilmiştir. *Eimeria* ookistlerini saptama amacıyla direkt dışkı örnekleri ve potassium dichromatlı örnekler üzerinde kullanılan iki yöntem ile de örneklerde *Eimeria* oocytsleri belirlenirken (Şekil 4.1) birim sahadaki ookist yoğunluğu ve kaba partiküllerin eliminasyonu yönünden potassium dichromatlı örnekler üzerine uygulanan modifiye tekniğin daha etkin olduğu belirlenmiştir. *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen örneklerin işletme kümeslerine göre dağılımları Tablo 4.1. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir.

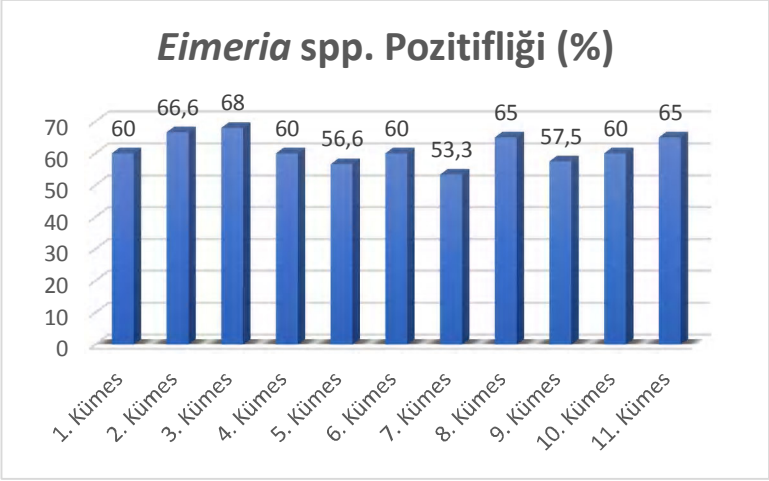


Şekil 4.1. Dışkı örneklerinde *Eimeria* ookistleri

Tablo 4.1. *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen örneklerin kümeslere göre dağılımı

	1. Kümes	**2. Kümes**	**3. Kümes**	**4. Kümes**	**5. Kümes**	**6. Kümes**	**7. Kümes**	**8. Kümes**	**9. Kümes**	**10. Kümes**	**11. Kümes**	**TOPLAM**
İncelenen Ö. S.	30	30	50	30	30	30	30	40	40	40	40	**390**
Pozitif Ö. S.	18	20	34	18	17	18	16	26	23	24	26	**240**

Ö.S.: Örnek sayısı



Şekil 4.2. *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen örneklerin kümeslere göre yüzdesel dağılımı

Tablo 4.1. ve Şekil 4.2.'de görüleceği üzere tüm kümeslerde birbirlerine yakın oranlarda ve %50'nin üzerinde *Eimeria* spp. pozitifliği saptanmıştır.

4.2. GRAM DIŞKIDAKİ OOKİST SAYISI (OPG)

Eimeria ookistleri ile pozitif belirlenen 240 örneğin OPG değerlerinin 100,00 ile 300000,00 arasında değiştiği belirlenmiştir. OPG değerlerinin kümeslere göre dağılımları ve ortalamaları Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen örneklerde OPG değerlerinin kümeslere göre dağılımı

İşletme Adı	Pozitif Örnek Protokol No	OPG	Ortalama OPG
1. Kümes	5-1K	120,00	52300,00
	6-1K	112000,00	
	9-1K	6000,00	
	11-1K	131000,00	
	12-1K	89000,00	
	14-1K	10500,00	
	16-1K	90000,00	
	17-1K	24500,00	
	18-1K	137000,00	
	19-1K	56600,00	
	20-1K	86560,00	
	23-1K	980,00	
	24-1K	2760,00	
	25-1K	5000,00	
	27-1K	43000,00	
	28-1K	480,00	
	29-1K	145000,00	
	30-1K	900,00	
2. Kümes	2-2K	3000,00	44606,00
	3-2K	79000,00	
	4-2K	15000,00	
	5-2K	980,00	
	7-2K	4580,00	
	9-2K	60000,00	
	10-2K	61200,00	
	11-2K	68780,00	
	12-2K	250000,00	
	13-2K	1440,00	
	14-2K	6000,00	

	17-2K	6600,00	
	19-2K	9880,00	
	20-2K	40200,00	
	22-2K	50400,00	
	23-2K	37600,00	
	24-2K	56000,00	
	28-2K	125000,00	
	29-2K	3460,00	
	30-2K	13000,00	
3. Kümes	1-3K	35000,00	42539,41
	5-3K	33000,00	
	6-3K	43000,00	
	7-3K	27600,00	
	11-3K	27880,00	
	15-3K	145000,00	
	16-3K	189900,00	
	17-3K	34000,00	
	18-3K	84000,00	
	19-3K	2000,00	
	20-3K	47000,00	
	21-3K	89800,00	
	22-3K	3460,00	
	23-3K	4600,00	
	24-3K	13400,00	
	25-3K	160000,00	
	26-3K	25000,00	
	29-3K	6560,00	
	30-3K	55560,00	
	31-3K	42000,00	
	32-3K	9840,00	
	33-3K	46000,00	
	34-3K	21000,00	
	35-3K	5460,00	
	37-3K	56900,00	
	38-3K	16780,00	
	39-3K	23200,00	
	40-3K	45400,00	
	43-3K	43420,00	
	45-3K	980,00	
	46-3K	5400,00	
	48-3K	54560,00	
	49-3K	23200,00	
	50-3K	25440,00	

4. Kümes	2-4K	1240,00	47822,22
	3-4K	12000,00	
	8-4K	6460,00	
	10-4K	100000,00	
	13-4K	98300,00	
	14-4K	8780,00	
	15-4K	5680,00	
	17-4K	31000,00	
	19-4K	156000,00	
	20-4K	46680,00	
	22-4K	57760,00	
	23-4K	24300,00	
	24-4K	72000,00	
	26-4K	5020,00	
	27-4K	98900,00	
	28-4K	48900,00	
	29-4K	54480,00	
	30-4K	33300,00	
5. Kümes	2-5K	10400,00	50021,17
	3-5K	58000,00	
	5-5K	44360,00	
	6-5K	20200,00	
	8-5K	4700,00	
	9-5K	10120,00	
	12-5K	68880,00	
	14-5K	202000,00	
	15-5K	20240,00	
	16-5K	440,00	
	23-5K	76000,00	
	24-5K	88000,00	
	25-5K	12200,00	
	27-5K	98800,00	
	28-5K	58400,00	
	29-5K	66800,00	
	30-5K	10820,00	
6. Kümes	2-6K	76660,00	56254,44
	5-6K	10440,00	
	10-6K	40100,00	
	12-6K	47880,00	
	13-6K	120200,00	

	14-6K	112000,00	
	15-6K	14400,00	
	16-6K	68800,00	
	17-6K	20220,00	
	19-6K	1040,00	
	21-6K	840,00	
	22-6K	89000,00	
	24-6K	58640,00	
	25-6K	55100,00	
	26-6K	62820,00	
	27-6K	135400,00	
	28-6K	56140,00	
	29-6K	42900,00	
7. Kümes	1-7K	65400,00	45892,5
	2-7K	100,00	
	3-7K	49220,00	
	4-7K	100100,00	
	5-7K	10580,00	
	6-7K	14460,00	
	9-7K	41820,00	
	13-7K	860,00	
	14-7K	33680,00	
	16-7K	15330,00	
	18-7K	63240,00	
	21-7K	57880,00	
	24-7K	47110,00	
	25-7K	98860,00	
	27-7K	51200,00	
	29-7K	84440,00	
8. Kümes	3-8K	58860,00	54184,61
	4-8K	111000,00	
	7-8K	89880,00	
	8-8K	20240,00	
	9-8K	32020,00	
	12-8K	20020,00	
	15-8K	54080,00	
	18-8K	65660,00	
	21-8K	22000,00	

	22-8K	1440,00	
	23-8K	135500,00	
	25-8K	88900,00	
	27-8K	39880,00	
	28-8K	42860,00	
	29-8K	220,00	
	30-8K	136000,00	
	31-8K	66600,00	
	32-8K	93380,00	
	33-8K	4300,00	
	34-8K	6400,00	
	35-8K	10100,00	
	36-8K	46600,00	
	37-8K	55000,00	
	38-8K	64000,00	
	39-8K	100460,00	
	40-8K	43400,00	
9. Kümes	3-9K	50000,00	51225,21
	4-9K	300000,00	
	5-9K	75040,00	
	6-9K	20220,00	
	8-9K	1220,00	
	11-9K	2480,00	
	13-9K	6860,00	
	14-9K	58880,00	
	16-9K	34600,00	
	17-9K	20460,00	
	19-9K	64440,00	
	21-9K	1680,00	
	22-9K	2880,00	
	23-9K	10000,00	
	24-9K	19800,00	
	25-9K	42000,00	
	26-9K	80440,00	
	27-9K	96800,00	
	30-9K	140400,00	
	33-9K	20200,00	
	35-9K	28780,00	

	37-9K	55500,00	
	38-9K	45500,00	
10. Kümes	8-10K	35400,00	48730,83
	11-10K	98800,00	
	12-10K	10280,00	
	13-10K	14060,00	
	14-10K	15660,00	
	16-10K	84400,00	
	17-10K	64800,00	
	18-10K	40780,00	
	20-10K	3980,00	
	23-10K	10800,00	
	24-10K	74220,00	
	25-10K	154400,00	
	26-10K	64460,00	
	27-10K	20220,00	
	28-10K	40040,00	
	29-10K	86600,00	
	30-10K	20040,00	
	33-10K	840,00	
	34-10K	91060,00	
	35-10K	68800,00	
	36-10K	24400,00	
	37-10K	44400,00	
	38-10K	1080,00	
	40-10K	100020,00	
11. Kümes	2-11K	243000,00	50511,53
	4-11K	64400,00	
	5-11K	86060,00	
	6-11K	32040,00	
	7-11K	20400,00	
	8-11K	12440,00	
	10-11K	30440,00	
	13-11K	64060,00	
	14-11K	15600,00	
	17-11K	8760,00	
	18-11K	64400,00	
	19-11K	9840,00	

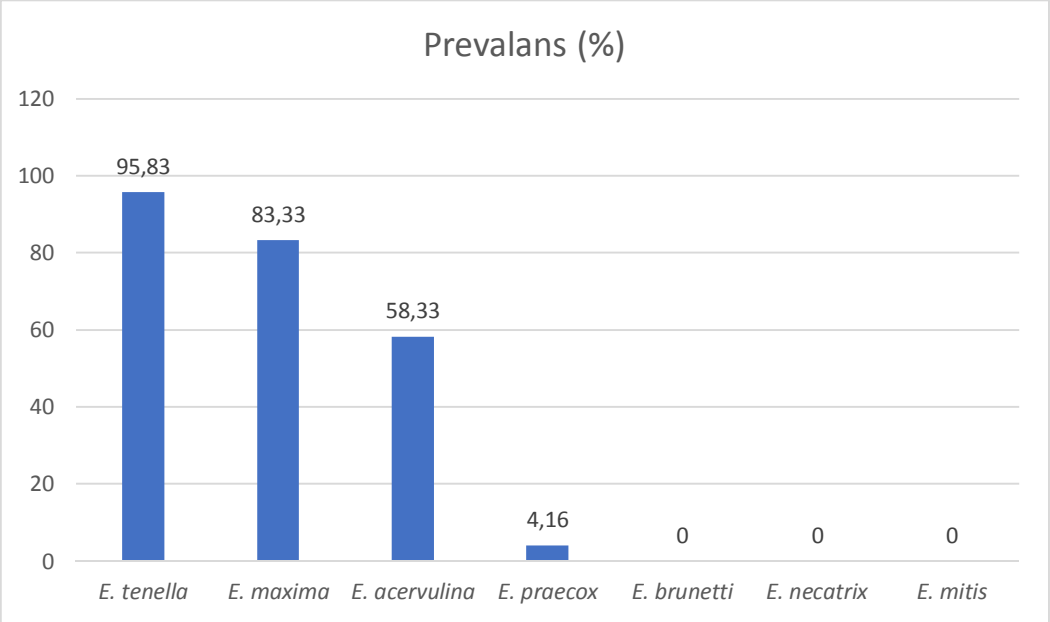
	20-11K	66600,00	
	22-11K	32000,00	
	24-11K	62400,00	
	25-11K	86600,00	
	26-11K	2400,00	
	27-11K	1200,00	
	28-11K	26800,00	
	30-11K	98600,00	
	32-11K	40860,00	
	33-11K	50000,00	
	35-11K	51200,00	
	36-11K	46800,00	
	37-11K	32800,00	
	40-11K	63600,00	

4.3. TAQMAN REAL TİME PCR ANALİZ SONUÇLARI

Eimeria ookistleri ile pozitif saptanan örneklere ait genomik DNA izolatlarının *Eimeria* türleri yönünden TaqMan Real Time PCR sonuçları ve türlere göre prevalans değerleri Tablo 4.3 ve Şekil 4.3'de verilmiştir. Tablo 4.3'de verilen sonuçlar çerçevesinde en yaygın tür %95,8 ile *E. tenella* olarak belirlenmiş bunu sırasıyla %83,33 ile *E. maxima*, %58,3 ile *E. acervulina* ve %4,1 ile *E. praecox* izlemiştir (Şekil 4.3).

Tablo 4.3. Pozitif örneklerde saptanan *Eimeria* türleri ve prevalansları

Pozitif Örnek Sayısı	***Eimeria* türü**	**Prevalans**	
		Sayı	%
240	*E. tenella*	230	95,83
	E. maxima	200	83,33
	E. acervulina	140	58,33
	E. praecox	10	4,16
	E. brunetti	0	0
	E. necatrix	0	0
	E. mitis	0	0

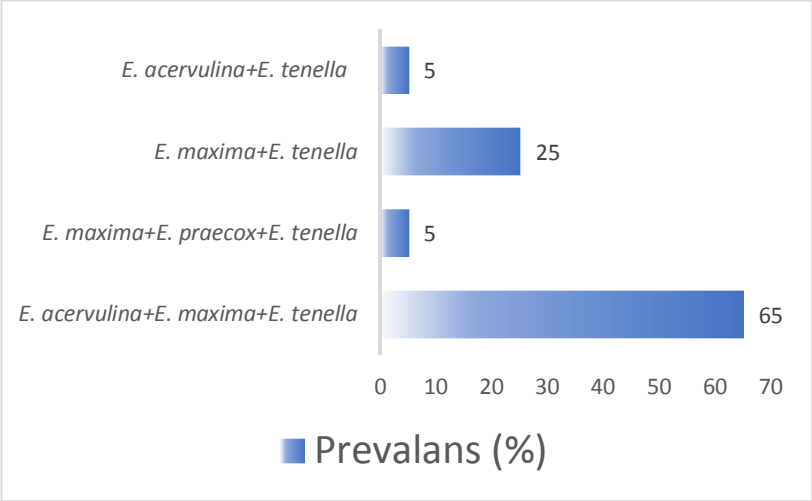


Şekil 4.3. Pozitif örneklerde *Eimeria* türlerinin dağılım grafiği

Eimeria ookistleri ile pozitif belirlenen dışkı örneklerinde tek türle enfeksiyonların yanısıra en yüksek üç türle miks enfeksiyonlar saptanmıştır. Bu kapsamda incelemeye alınan 390 dışkı örneğinin 200'ü (%51,2) miks enfekte belirlenirken bu oran sadece pozitif örnekler baz alındığında %83,3 olarak hesaplanmıştır. Miks enfeksiyonlara neden olan *Eimeria* türleri ve bu enfeksiyonların prevalans değerleri Tablo 4.4 ve Şekil 4.4'de verilmiştir. Tablo 4.4 ve Şekil 4.4'ne göre *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. tenella* türlerinin miks seyrettiği enfeksiyonların prevalans değeri %65 olarak belirlenirken bunu %25'lik oranla *E. maxima*, *E. tenella* ve %5'lik oranlarla *E. maxima*, *E. praecox*, *E. tenella* ve *E. acervulina*, *E. tenella* türlerinin meydana getirdiği miks enfeksiyonlar takip etmiştir.

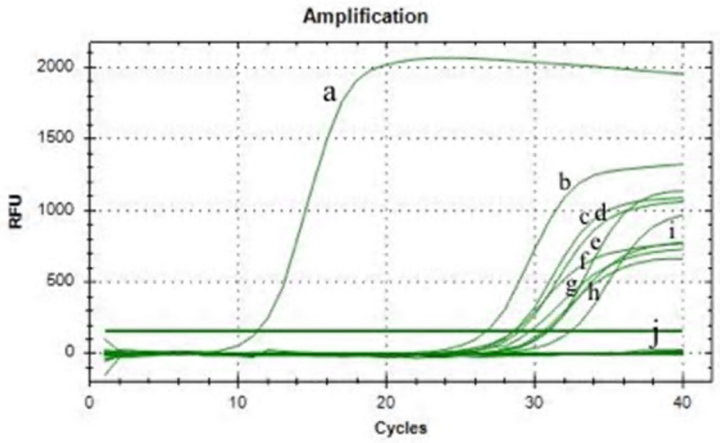
Tablo 4.4. Miks enfeksiyonların prevalansı ve *Eimeria* türleri

Miks Enfekte Örnek Sayısı	***Eimeria* türü**	**Prevalans**	
		Sayı	%
200	*E. acervulina+E. maxima+E. tenella*	130	65
	E. maxima+E. praecox+E. tenella	10	5
	E. maxima+E. tenella	50	25
	E. acervulina+E. tenella	10	5

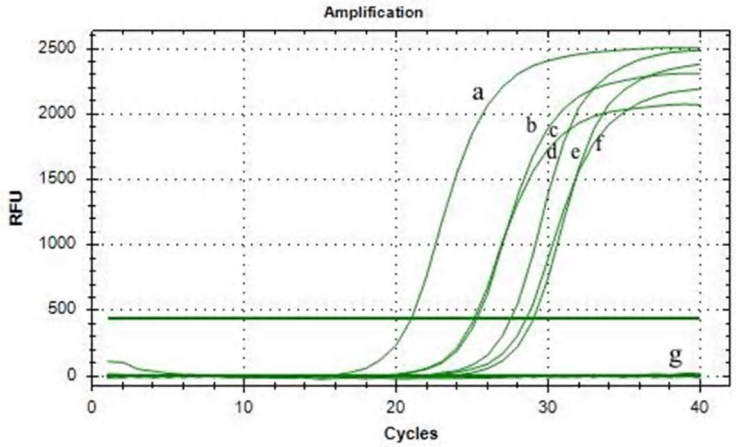


Şekil 4.4. Miks örneklerde *Eimeria* türlerinin dağılım grafiği

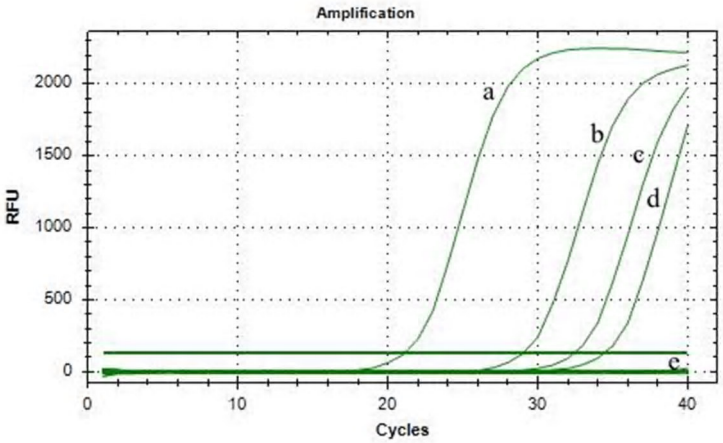
Real Time PCR'da pozitif belirlenen örneklerin *Eimeria* türlerinin tür bazlı olarak ITS-2 gen bölgesini amplifiye eden spesifik primer ve problarla analizi sonucu elde edilen amplifikasyon eğrileri Şekil 4.5-4.11'de gösterilmiştir.



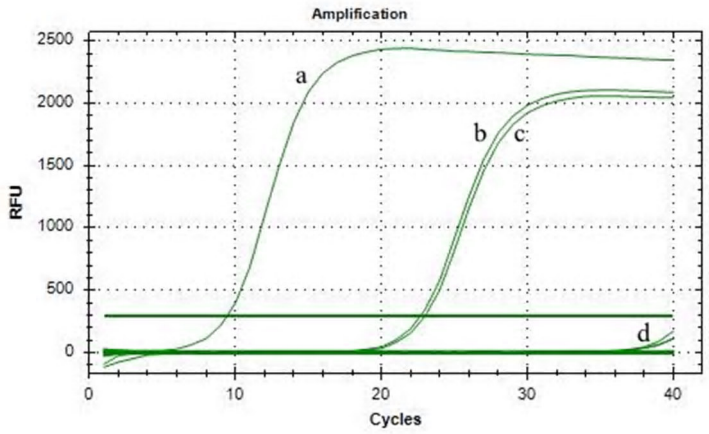
Şekil 4.5. *E. tenella* yönünden pozitif belirlenen bazı örneklerin Real Time PCR'da belirlenen amplifikasyon eğrileri. a: Pozitif kontrol, b-i: Pozitif örnekler, j: Negatif örnekler ve No DNA



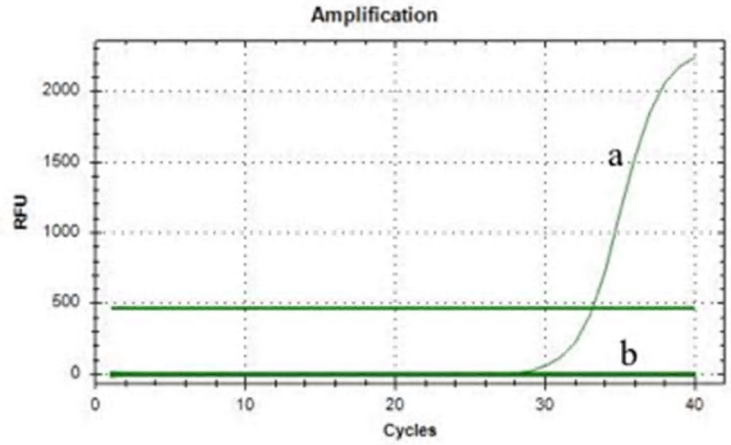
Şekil 4.6. *E. maxima* yönünden pozitif belirlenen bazı örneklerin Real Time PCR'da belirlenen amplifikasyon eğrileri. a: Pozitif kontrol, b-f: Pozitif örnekler, g: Negatif örnekler ve No DNA



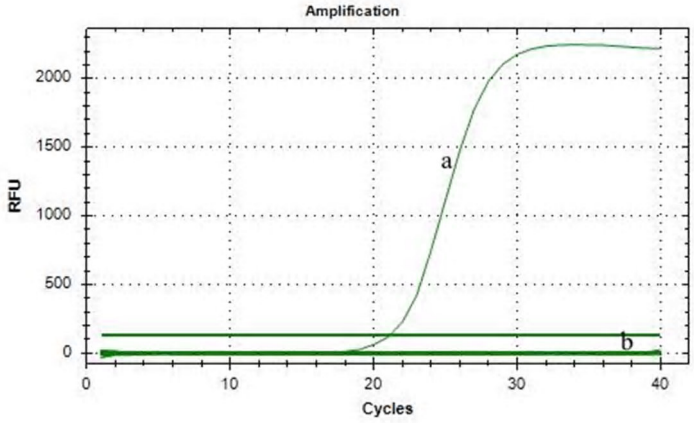
Şekil 4.7. *E. acervulina* yönünden pozitif belirlenen bazı örneklerin Real Time PCR'da belirlenen amplifikasyon eğrileri. a: Pozitif kontrol, b-d: Pozitif örnekler, e: Negatif örnekler ve No DNA



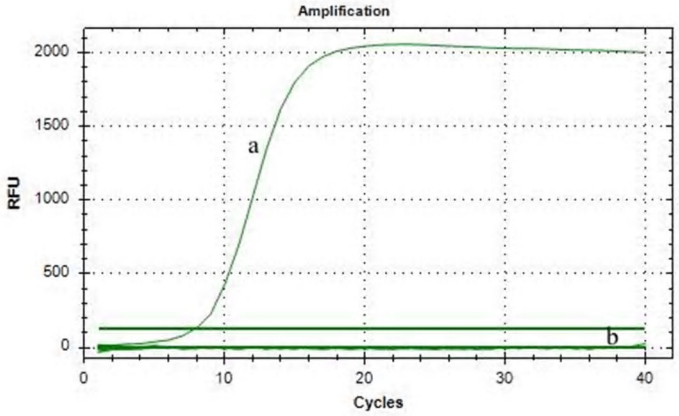
Şekil 4.8. *E. praecox* yönünden pozitif belirlenen bazı örneklerin Real Time PCR'da belirlenen amplifikasyon eğrileri. a: Pozitif kontrol, b-c: Pozitif örnekler, d: Negatif örnekler ve No DNA



Şekil 4.9. *E. brunetti*'nin Real Time PCR analizlerinde belirlenen amplifikasyon eğrileri. a: Pozitif kontrol, b: Negatif örnekler ve No DNA



Şekil 4.10. *E. necatrix*'in Real Time PCR analizlerinde belirlenen amplifikasyon eğrileri. a: Pozitif kontrol, b: Negatif örnekler ve No DNA



Şekil 4.11. *E. mitis*'in Real Time PCR analizlerinde belirlenen amplifikasyon eğrileri. a: Pozitif kontrol, b: Negatif örnekler ve No DNA

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya'da kanatlıların en önemli ve yaygın hastalığı olarak kabul edilen coccidiosis, kanatlılarda direkt ölümlere neden olmakla birlikte yemden yararlanma ve canlı ağırlık artışında da gerilemelere yol açarak büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (37, 107). Hastalığın, özellikle tavukçuluk sektöründe, yıllık 1,5 milyar doları aşan ekonomik zarara yol açtığı bildirilmiştir (65, 91, 108). Bu nedenle coccidiosis'e karşı tedavi, mücadele ve korunma yöntemleri son yıllarda oldukça önem kazanmıştır.

Tavuklarda coccidiosis'e neden olan etkenlerin bulaşma ve yayılması, sporlanmış ookistlerin primer olarak bulaşık su ve yemlerin ağız yoluyla alınmasıyla gerçekleşmektedir (1, 2). Ancak coccidiosis'in meydana gelmesinde konak, etken, çevre, bakım, besleme, diğer enfeksiyonlar ve stres de kilit roller oynayan faktörlerdendir (2). Konağa ait faktörler başlıca yaş, ırk ve bağışıklık sisteminin etkinliği olarak belirtilmektedir. Yapılan araştırmalarda (10, 15, 71) özellikle *E. tenella*'ya karşı çeşitli tavuk ırklarının daha duyarlı oldukları bildirilmiştir. Bunun yanında Beyaz Leghorn, New Hampshire ve Rhode Island Red tavuk ırklarının coccidiosis'e daha dirençli oldukları, Barred Plymouth Rock ve Jersey White Giant ırklarının ise daha duyarlı oldukları belirtilmiştir (6). Çalışmamızda, Hubbard Isa Red Ja ırkı tavukların bulunduğu ve herbiri yaklaşık 15000 adet tavuk barındıran 11 kümeste coccidiosis etkenleri araştırılmış ve toplanan 390 adet dışkı örneğinin 240'ının coccidiosis etkeni veya etkenleriyle (miks) enfekte olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen %61,5'lık pozitiflik oranı bu tavuk ırkının coccidiosis'e karşı duyarlı olduğunu göstermiştir.

Coccidiosis kanatlı yetiştiriciliğinde oldukça yaygın görülen bir hastalıktır. Coccidiosis'in yaygın olarak görülmesinde; etkenlerin her yerde bulunmaları, kümes içinde kolayca yayılmaları ve yüksek üreme potansiyeline sahip olmaları gibi nedenler rol oynamaktadır (59). Özellikle hijyen eksikliği, kalabalık barındırmalar ve bakımsız kümesler, monoksen bir hayat siklusuna sahip olan *Eimeria* etkenlerinin yayılışlarını

pozitif yönde etkilemektedir. Bu nedenle yetiştiricilik yapılan alanlar, mevcut koşullar, işletme tipi ve yönetimi hastalığın epidemiyolojisi açısından önem arz etmektedir (1, 2).

Tavukçuluk sektöründe geleneksel kafes sistemi, ekipman ve iş gücü masraflarının düşük olması nedeniyle tercih edilmektedir. Bu sistem yaygın olarak kullanılan bir üretim sistemidir. Haartsen ve Elson (109) yaptıkları çalışmada kafes siteminin en ekonomik sistem olduğunu belirtmişlerdir. Ancak, son yıllarda organik tarım ve hayvancılıktan elde edilen ürünlerin ilgi görmesiyle birlikte tavukçuluk sektöründe de kafes sistemi yerine ektansif yetiştiricilik ön plana çıkmış ve salma tip (serbest sistem, free-range) yetiştiricilik yapan işletmelerin sayısı artmaya başlamıştır (110). Salma tip tavukçulukta, tavukların tamamı gün boyu dışarı çıkarak belirli bir alanda serbest bir şekilde gezinebilmekte ve gezindikleri alanlarda bulunan gıdalardan faydalanmaktadırlar (110). Böylece sınırlı alanda entansif olarak yetiştirilen ve sürekli kontrol altında tutulan tavuklara kıyasla doğada serbest bir şekilde gezinen bu tavuklar, daha fazla dış etkenlere maruz kalmaktadırlar. Ayrıca bu tip işletmelerde hastalıklardan korunmada alınan tedbirler entansif işletmelere göre daha yetersiz olduğu ifade edilmiştir (111). Bunun yanında salma tip işletmelerde yetiştirilen tavuklar, doğadan da besin alabileceği ön görülerek genellikle ihtiyacı olduğundan daha az miktarda beslendikleri ve bu durumda hayvanların yetersiz beslenmeye bağlı olarak hastalıklara karşı daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (112). Bu nedenle salma tip işletmelerde görülen hastalıkların sayısının da arttığı ve işletmede bulunan tavukların çeşitli patojenlerin hedefi olduğu belirtilmiştir (113, 114). İklim şartlarına karşı dirençli olan ve toprakta haftalarca hatta aylarca canlı kalabilen *Eimeria* ookistleri bu patojenlerin en önemlilerindendir. Yapılan çalışmalarda (113, 114) monoksen bir hayat siklusuna sahip olan *Eimeria* etkenlerinin, işletmeler ve kümesler arasında mekanik nakil yoluyla kolayca yayıldığı ve koruma-kontrol tedbirlerinin yetersiz olduğu durumlarda ektansif işletmelere kıyasla, entansif işletmelerde daha yüksek prevalans değerleriyle seyrettiği bildirilmiştir. Nitekim, Babatunde ve ark. (114) Nijerya'da salma tip ve entansif yetiştiricilik yapılan işletmelerde yürüttükleri çalışmalarında topladıkları dışkı örneklerini *Eimeria* etkenleri yönünden incelemişler ve salma tip yapılan işletmelerde %32 oranında bir pozitiflik saptarlarken entansif işletmelerde bu oranın %18 olduğunu bildirmişlerdir. Ancak bazı araştırmalarda (115-117) işletme yönetim sistemine bağlı olarak entansif işetmelerde coccidiosis prevalans oranlarının daha yüksek olabildiği de

belirtilmiştir. Öte yandan, Adhikari ve ark. (118) çamur-toprak zeminli ve beton zeminli işletmelerde yaptıkları çalışmalarında coccidiosis prevalansını sırasıyla %29 ve %24 olarak belirlemişler ve zemin yapısının coccidiosis için önemli olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmamızda doğal toprak zeminde salma tip tavukçuluğun yapıldığı 11 kümesten toplanan dışkı örnekleri incelenmiş ve tüm kümeslerde *Eimeria* etkenlerinin bulunduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, araştırıcıların (113, 114, 118) bulgularına paralel olarak, ektansif yetiştirme türü olan salma tip tavukçulukta coccidiosis'in yaygın olarak görüldüğünü ortaya koymuştur.

Türkiye'de coccidiosis'in yayılışı ve coccidiosise yol açan *Eimeria* türleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Mevcut araştırmalarda ookist morfolojisi, nekropsi ve histopatolojik bulguların değerlendirilmesi gibi konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra moleküler yöntemler kullanılarak da etkenlerin tür tayinleri yapılmış ve sonuç olarak tavuklarda görülen 7 *Eimeria* türününde (*E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. tenella*, *E. praecox*) Türkiye'de bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca, yapılan literatür taramalarında özellikle eski yıllarda yapılmış çalışmalarda *E. hagani* ve *E. mivati*'nin tavuklarda coccidiosis'e neden olan *Eimeria* türlerine dahil edildiği görülmüştür (2). Ancak son çalışmalarda *E. hagani*'nin ayrı bir tür olmadığı, *E. mivati* ve *E. mitis*'in ise sinonim oldukları ifade edilmiştir (2).

Türkiye'de tavuk coccidiosis'i ile ilgili ilk tür bildirimi, Başkaya ve ark. (119) tarafından "Ankara civciv ve piliçlerinde görülen coccidiosis olayları üzerine araştırmalar" başlıklı çalışma ile yapılmıştır. Bu çalışmada, Ankara Tavukçuluk Enstitüsü, Ankara Ziraat Fakültesi Zootekni Enstitüsü kümesleri ve Sincan köyünde; ookist morfolojisi, nekropsi ve histopatolojik bulgular değerlendirilerek, muayene edilen 287 hayvandan 237'sinin (%82,5) *Eimeria* türleri ile enfekte olduğu saptanırken coccidiosis'e neden olan bu türler *E. tenella, E. maxima, E. acervulina* ve *E. mitis* olarak identifiye edilmiştir. Oytun (120), civcivlerde coccidiosis'e karşı sulfamezatin sağaltımının araştırdığı çalışmasında Ankara Ziraat Fakültesi Zootekni Enstitüsü kümeslerindeki 730 civcivde, nekropsi ve ookist morfolojisine göre, *E. tenella, E. acervulina, E. mitis* ve *E. praecox* olmak üzere 4 farklı tür tespit etmiştir. Meydani (121), çeşitli kimyasal bileşiklerin coccidiosis'den korunmadaki etkilerini araştırdığı çalışmasında, Ankara'da 948 dışkı numunesini incelemiş ve ookist morfolojisine dayanarak *E. tenella, E. necatrix, E. maxima, E. acervulina* ve *E. mitis* olmak üzere 5

Eimeria türünü saptamıştır. Merdivenci (122), Ankara'da *E. acervulina, E. maxima, E. mitis, E. necatrix, E. praecox* ve *E. tenella* olmak üzere 6 farklı türü ookist morfolojisi ile belirlemiştir. Demir (123), doktora tez çalışmasında, Bursa il sınırları içerisindeki 45 kümesten topladığı 1396 tavuk dışkı örneğinin 740'ının (%53) coccidiosis etkenleri ile enfekte olduğu tespit etmiştir. Aynı araştırıcı, (123) etkenlerin tür tayininde ookist morfolojisi, nekropsi ve histopatolojik bulguları da değerlendirmiş ve *E. necatrix, E. tenella, E. brunetti, E. mitis* ve *E. maxima* türlerini tespit etmiştir. Gürel (124), Elazığ yöresindeki tavuklarda ve dışkı örneklerinde, ookist morfolojisi ve nekropsi muayenesi ile *Eimeria* türlerinin insidensini araştırdığı çalışmasında; 578 tavuktan 130'ununun (%22,4) *E. tenella, E. necatrix, E. acervulina* ve *E. maxima* olmak üzere 4 türün yer aldığı coccidiosis etkenleri ile enfekte olduğunu bildirmiştir. Sarı (125), Adapazarı Merkez ve Kaynarca, Bolu-Göynük, Balıkesir-Bandırma ve Ankara-Kazan ilçelerinde bulunan kümeslerden aldığı altlık ve dışkı örneklerinde *E. tenella, E. necatrix, E. maxima, E. brunetti, E. hagani, E. praecox* ve *E. mitis* türlerini tespit etmiştir. Karaş (126), Adapazarı Merkez ve Kaynarca, Balıkesir-Bandırma, Bolu-Göynük ve Ankara Kazan ilçelerindeki kümeslerden aldığı altlık ve dışkı örneklerinde *E. brunetti, E. maxima, E. mitis, E. mivati, E. necatrix, E. tenella* ve *E. hagani* türlerini saptamıştır. Karaer ve ark., (127) Marmara, Karadeniz, İç Anadolu, Ege, Akdeniz ve Doğu Anadolu bölgelerinde bulunan toplam 1108 işletmede coccidiosis etkenlerini araştırmışlar ve 602 (%54,3) örnekte pozitiflik saptamışlardır. Aynı araştırıcılar (127) pozitif saptadıkları örneklerde *E. tenella, E. acervulina, E. maxima, E. praecox, E. necatrix, E. mitis* ve *E. brunetti* türlerini identifiye etmişlerdir. Güven ve ark., (128) Türkiye'de broiler yetiştiriciliği yapılan 817 çiftlikteki toplam 1110 kümesten topladıkları dışkı örneklerini *Eimeria* türlerinin varlığı yönün araştırmışlar ve örneklerin 624 (%56,2)'ünde *Eimeria* ookistlerini saptamışlardır. Ayrıca araştırıcılar, (128) klasik PCR yöntemi ile *E. maxima, E. tenella, E. acervuline* ve *E. praecox* türlerini saptarlarken, *E. mitis* ve *E. brunetti* türlerini ise nested PCR yöntemi ile teşhis etmişlerdir. Bu çalışmamızda ise salma tip (free-range) tavukçuluk işletmeciliği yapılan ve herbiri yaklaşık 15000 adet Hubbard Isa Red Ja ırkı tavuk barındıran 11 kümesten toplam 390 adet dışkı örneği toplanmış ve yapılan konvansiyonel dışkı muayenesi sonucunda, 390 örneğin 240'ında (%61,5) *Eimeria* ookistleri tespit edilmiştir. Ayrıca örnek toplanan 11 kümesin tamamında *Eimeria* türlerinin bulunduğu ortaya konmuştur. Elde edilen %61,5'lik coccidiosis prevalans oranının Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yapılan çalışmalarla

ortaya konulan en düşük %22,4 ve en yüksek %82,5'lik prevalans oranları aralığında yer aldığı belirlenmiştir. Böylece çalışmamız sonuçları da dahil edildiğinde Türkiye'de tavuklarda coccidiosis prevalansının ortalama %54,9 civarında olduğu görülmüştür. Öte yandan çalışmamızda, *Eimeria* ookistleri ile pozitif saptanan örnekler, *Eimeria* türlerinin teşhisi amacıyla spesifik TaqMan Real Time PCR analizlerine tabi tutulmuş ve incelen işletmelerde coccidiosis'e neden olan türlerin *E. tenella, E. maxima*, *E. acervulina* ve *E. praecox* olduğu belirlenmiştir. Böylece bu çalışma ile Türkiye'de varlığı bildirilen 7 *Eimeria* türünden 4'ünün Samsun yöresindeki salma tip tavukçuluk yapılan işletmelerde bulunduğu moleküler olarak tespit edilmiştir.

Dünya'da kanatlı endüstrisinde en yaygın *Eimeria* türü olarak belirlenen *E. tenella*, sahip olduğu %100 morbidite ve yüksek mortalite oranlarının yanında tavukların sindirim sistemlerinde meydana getirdiği ağır hasarlar nedeniyle aynı zamanda en patojenik tür olarak da ifade edilmektedir (129, 130). Dünya'da yapılan çalışmalar incelendiğinde *E. tenella*'nın yanında *E. maxima* ve *E. acervulina*'nın da son derece yaygın bir şekilde seyrettiği görülmüştür (2). Kaboudi ve ark. (111) Tunus'ta yaptıkları çalışmalarında coccidiosis enfeksiyon oranını %31,8 olarak belirlemişlerdir. Aynı araştırıcılar, (111) çalışmalarında en yüksek prevalans oranına sahip olan *Eimeria* türünü *E. tenella* (%61,5) olarak tespit etmişler, *E. maxima* ve *E. acervulina*'nın ise sırasıyla %12 ve %1,5'luk orana sahip olduklarını bildirmişlerdir. Hamidinejat ve ark. (131) İran'da yaptıkları ve %31,5'lik bir coccidiosis enfeksiyon oranı saptadıkları çalışmalarında *E. tenella*'nın %31'lik bir oranla en yaygın tür olduğunu, *E. maxima* ve *E. acervulina*'nın ise %24,6 ve %23'lük oranlarla bu türü takip ettiklerini tespit etmişlerdir. Kumar ve ark. (132) Hindistan'da yaptıkları çalışmalarında *E. tenella*'nın %97,9'luk bir prevalansla en yaygın tür olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda tavuklarda coccidiosis'e neden olan *Eimeria* türleri TaqMan Real Time PCR analizleri ile identifiye edilmiş ve belirlenen türler içerisinde en yüksek oranda yayılış gösteren türün %95,8'lik oranla *E. tenella* olduğu tespit edilmiştir. Bunu %83,33 ile *E. maxima*, %58,3 ile *E. acervulina* ve %4,1 ile *E. praecox* takip etmiştir. Çalışmamızdan elde edilen bu bulgular Dünya'da yapılmış diğer çalışma sonuçlarıyla paralellik göstermekte ve *E. tenella*'nın tavuk coccidiosis etkenleri arasında en yaygın *Eimeria* türü olduğunu doğrulamaktadır.

Çalışmamızda *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen dışkı örneklerinde tek türle enfeksiyonların yanısıra en yüksek üç türle miks enfeksiyonlar saptanmıştır. İncelemeye alınan 390 dışkı örneğinin %51,2'sinin, sadece pozitif örneklerin ise %83,3'ünün miks enfekte olduğu tespit edilmiştir. Sadece miks enfeksiyonlar göz önüne alındığında, *E. acervulina*, *E. maxima* ve *E. tenella* türlerinin prevalans değeri %65; *E. maxima* ve *E. tenella*'nın %25; *E. maxima*, *E. praecox* ve *E. tenella*'nın %5 ve son olarak *E. acervulina* ve *E. tenella*'nın prevalans değeri ise yine %5 olarak hesaplanmıştır. Miks enfeksiyonlar, yapılan araştırmalarda oldukça sık ortaya çıkmaktadır (133). Nitekim, Györke ve ark. (134) Romanya'da 12 broyler çiftliğinde yürüttükleri çalışmalarında miks enfeksiyonların oranını %65 olarak saptamışlar ve en yüksek miks enfeksiyon oranlarına sahip *Eimeria* türlerini *E. acervulina* + *E. tenella* (35%) ve *E. acervulina* + *E. tenella* + *E. maxima* (17%) olarak belirlemişlerdir. Kaboudi ve ark. (111) Tunus'ta yürüttükleri çalışmalarında toplam miks enfeksiyon oranını %26,5 olarak belirlemişler ve bu enfeksiyonları oluşturan *Eimeria* türlerini *E. tenella* + *E. maxima* %25 ve *E. tenella* + *E. acervulina* %1,5 olarak bildirmişlerdir. You (135) Kore'de yaptığı çalışmasında iki *Eimeria* türüyle meydana gelen miks enfeksiyonların prevalans oranını %40, üç türle meydana gelenleri %25 ve dört türle meydana gelen miks enfeksiyonları %15 olarak hesaplamıştır. Dünya genelinde yapılan diğer araştırmalar (136-139) incelendiğinde miks enfekte olarak belirlenen örneklerin en çok *E. tenella* ve *E. acervulina* türleri tarafından oluşturulduğu görülmüştür. Nitekim çalışmamızda da bu iki türün yanında *E. maxima*'nın da yer aldığı miks enfeksiyonun %65'lik oran ile en yüksek prevalans değerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde yapılan tavuk coccidiosis'i çalışmalarında (127, 128) OPG değerlerinin 50 ile 952.000 arasında değiştiği rapor edilmiştir. Güven, (38) Türkiye genelinde yürüttüğü doktora tez çalışmasında Samsun yöresindeki 25 kümesten topladığı dışkı örneklerinde OPG değerlerinin 150 ile 367400 arasında olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda ise bu değerler minimum 100 ile maksimum 300000 olarak kaydedilmiştir. Elde edilen ortalama OPG değerlerinin, yörede yapılan diğer çalışmanın (38) sonuçları ile benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Geleneksel mikroskopi ve morfolojik teknikler tipik olarak coccidian ookistlerin identifikasyonu için kullanılmaktadır. Ancak bu teknikler, önemli düzeyde parazitolojik uzmanlık gerektirmektedir. Deneyimsiz kişiler tarafından yapılan analizler, hastalıkların

teşhisi ve epidemiyolojisi hakkında yanlış verilerin elde edimesine neden olmaktadır (140). Özellikle ookistlerin fekal ve gıda örneklerinden izole edilmesi, saptanması ve identifikasyonundaki zorluklar, *Eimeria, Sarcocystis, Isospora, Cryptosporidium, Cyclospora* ve *Toxoplasma* gibi cinslere ait türlerin oluşturdukları hastalıkların kesin olarak saptanamamasına ve dolayısıyla da hastalık salgın araştırmalarının ve etkin tedavi stratejilerinin ortaya konmasına engel teşkil etmektedir (141). Bu açıdan insan ve hayvanlarda coccidian ookistlerin saptanması için epidemiyolojik ve hastalık salgın araştırmalarında rutin kullanım amacıyla güvenilir moleküler tabanlı tekniklerle araştırmalara ihtiyaç ortaya çıkmıştır (140).

Son yıllarda moleküler teknolojilerde kaydedilen gelişmeler, paraziter etkenlerin gelişiminin ve üremesinin daha iyi anlaşılmasına dolayısıyla da kontrollerinde yeni yaklaşımların geliştirilmesine olanak tanımıştır. Etkenlerin doğru olarak tanımlanması ve genetik karekterizasyonlarının yapılmasının, sınıflandırma, populasyon genetiği, ekoloji, epidemiyoloji ve neden oldukları hastalıkların tanı, tedavi ve kontrolünde büyük önem taşıdığı bildirilmiştir (142).

Klinik örneklerde patojen organizmaların saptanmasında, prob oluşturulmasında, klonlamada, gen ekspresyon araştırmalarında, DNA dizi analizinde, büyük miktarda DNA örneklerinin oluşturulmasında, bilinmeyen dizilerin belirlenmesinde, restriksiyon fragment length polimorfizm (RFLP) analizinde ve daha bir çok alanda sıklıkla kullanılan ve DNA tabanlı bir teknik olan PCR, coccidiosis etkenlerinin identifikasyon ve karekterizasyonu için de kullanılmaya başlanmış ve böylece *Eimeria* türlerinin genomik bilgisi daha net bir şekilde ortaya konmuştur (143, 144). Ancak, geleneksel metotlarla kıyaslandığında daha hızlı, güvenilir, spesifik, duyarlı ve optimize edildiğinde objektif olan PCR tekniğinin diğer yöntemlere kıyasla bazı dezavantajlarının bulunabildiği bildirilmiştir (106). Örneğin, miks enfeksiyonlarda, özellikle hedef gen bölgesinin uygun belirlenemediği durumlarda konvansiyonel PCR tekniği ile teşhisin oldukça güç ve karmaşık bir hale dönüştüğü, ayrıca optimizasyonun iyi yapılamadığı bazı durumlarda PCR'ın, yanlış pozitiflikler verebildiği kaydedilmiştir (106). Bu nedenle son yıllarda araştırıcılar çalışmalarında, konvansiyonel PCR tekniğine kıyasla daha duyarlı ve özgül olan Real Time PCR tekniğine yönelmişlerdir (39, 40, 106).

Real Time PCR tekniği, hızı, sensitivite ve spesifitesi, seçiciliği, hedef patojen veya gen bölgesinin kantitatif olarak belirlenebilmesi, eş zamanlı hızlı teşhise olanak sağlaması, otomasyona uygun olması, mutasyon analizleri ve gen ekspresyonlarını hassas bir şekilde belirleyebilmesi gibi nedenlerle son yıllarda öne çıkan tekniklerin başında gelmiştir (41, 42). Farklı Real Time PCR teknikleri birçok farklı bilimsel alanda kullanılmaktadır. Örneğin *Cryptosporidium parvum*'un insanlar için patojenik genetik varyantlarının (145, 146), çeşitli kanatlı *Eimeria* türleri (43-46), *Borellia* (147) ve *Plasmodium* (148), *Leishmania* organizma grupları (149) ile plum pox virus suşlarının (150) başarılı bir şekilde ayrımında ve tek nükleotid polimorfizmlerinin spesifik olarak belirlenmesinde (151, 152) Real Time PCR teknikleri yüksek özgünlükte kullanılmıştır. Çalışmamızda *Eimeria* ookistleri ile pozitif belirlenen dışkı örneklerinden elde edilmiş genomik DNA izolatlarında, tavuklarda coccidiosise yol açan *E. acervulina, E. brunetti, E. maxima, E. mitis, E. necatrix, E. praecox* ve *E. tenella'*nın identifikasyonları amacıyla Real Time PCR tekniği kullanılmıştır. Bu kapsamda elde edilen sonuçlar, diğer araştırıcıların bulgu ve çıkarımlarına benzer şekilde bu tekniğin hızlı, hassas ve özgün olduğunu ve coccidiosis çalışmalarında özellikle tanı, korunma ve kontrolde ideal bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Kanatlı *Eimeria* türlerinin ITS bölgeleri yeterli ölçüde türler arası sekans varyasyonuna sahip olup, türlerin belirlenmesi ve diğer türlerden ayırt edilmesinde kullanılan analizler için primer seçimine olanak tanımaktadır. Hem sekans uzunluğunda hem de baz yapısındaki heterojenitesine bağlı olarak ITS gen bölgelerinin spesifik primer dizaynı için uygun hedef bölgeler olduğu bildirilmiştir (153). Bu nedenle çalışmamızda Morgan ve ark. (106)'nın ITS-2 gen bölgesinin 3' ucundan dizayn ettikleri primer ve problar kullanılmış ve bu hedef gen bölgesinin *Eimeria* türleri başarıyla identifiye etmede son derece kullanışlı olduğu doğrulanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışma ile Samsun yöresindeki salma tip tavukçuluk yapan işletmelerde coccidiosis'e yol açan *Eimeria* türlerinin moleküler prevalansı ortaya konmuş, primer yaygın ve predominant patojenik türün *E. tenella* tür olduğu saptanmıştır. Meydana gelen enfeksiyonların yüksek oranda miks karakterde oldukları belirlenmiş ve Real Time PCR tekniğinin epidemiyolojik araştırmalar çerçevesinde coccidiosis etkenlerini belirleme ve *Eimeria* tür identifikasyonlarını gerçekleştirmede son derece kullanışlı ve duyarlı bir yöntem olduğu da bu çalışmayla ortaya konmuştur.

Ayrıca bu çalışmayla, son yıllarda Türkiye'de sayıları artan salma tip tavukçuluk işletmelerinde coccidiosis'in moleküler epidemiyolojisi belirlenerek, hastalığa karşı etkin kontrol ve mücadele stratejilerinin geliştirilmediği ve gerekli tedbirlerin alınmadığı takdirde coccidiosis'in risk potansiyelinin bu tip işletmelerde daha çok artabileceğine dikkat çekilmiştir. Coccidiosis ile mücadele edilebilmesi ve ekonomik kayıpların önüne geçilebilmesi için entansif işletmelerin yanında ektansif işletmeleri de kapsayan geniş çaplı moleküler epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Model bir moleküler araştırma karakteristiğine sahip olan bu çalışma, takiben yapılacak proje çalışmaları için çok iyi bir yol gösterici olacaktır. Farklı bölgelerden elde edilecek benzeri yeni moleküler epidemiyolojik veriler ışığında Türkiye'de endüstriyel kanatlı yetiştiriciliğinde, coccidiosis ile mücadelede yeni ve modern stratejiler geliştirilebilecektir.

6. KAYNAKLAR

1. Dumanlı N, Aktaş M. Eimeriidae (Kanatlılarda Coccidios). In: Dumanlı N, Karaer KZ (eds), Veteriner Protozooloji. 2. baskı. Medisan, Ankara, 2015: p 105-124.
2. Karaer Z, Nalbantoğlu S. Coccidiosis enfeksiyonları. In: Özcel MA (ed), Veteriner Hekimlikte Parazit Hastalıklar. 2. baskı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, İzmir, 2016: p 534-546.
3. Arslan MÖ. Tavuklarda coccidiosis'in kontrolü. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 1996; 2 (2): 229-23.
4. Euzéby J. Protozoologie Medicale Comparee Vol II. Myxozoa Microspora Ascetospora Apicomplexa, 1: Coccidiosis (Sensu Lato) Coll Fond Marcel Fondation Merieux, 1987.
5. Demirözü K, Onar RE. Tavukların bitmeyen derdi coccidiosis. Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Yayını, 1986; 1-36.
6. Pellerdy L. Coccidia and Coccidiosis. 2 nd Revised ed. Publishing House of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest 1974: p 261-310.
7. WEB_1. (2017). The Taxonomicon. http://taxonomicon.taxonomy.nl/ (05.07.2017).
8. Davies SFM, Joyner LP, Kendal SB. Coccidiosis. Oliver and Boyd, London, 1963.
9. Kheysin YM. Species properties of Coccidia of domestic animals. In: Life Cycles of Coccidia of Domestic Animals. University Park Press, 1972: p 197-235.
10. Levine ND. Veterinary Protozoology (1st ed), Iowa State University Pres Ames, Iowa 1985: 130-188.
11. Hammond DM, Sayın F, Miner ML. Nitrofurozone as a prophylactic agent against experimental bovine coccidiosis. Amer. J Vet Res 1965; 83-89.

12. Hammond DM. Life cycles and development of Coccidia In: Hammond DM, Long LP (eds), The Coccidia. University Park Press, Baltimore, Maryland, 1973: p 45-80.

13. Kaufmann J. Parasitic Infections of Domestic Animals. Birkhauser Verlag, Basel, 1996.

14. Mimioğlu M, Göksu K, Sayın F. Veteriner ve Tıbbi Protozooloji, Cilt 2, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1979.

15. Melhorn H**.** Encyclopedic Reference of Parasitology (2 nd ed). Biology, Structure, Function. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 2001.

16. Hammond DM, Sayın F, Miner ML. Uberden entwicklungszyclus und die pathogenitat von *Eimeria ellipsoidalis* Becker und Frye, 1929 in Kalbern. Berl Munch Tierarztl Wschr 1963; 76: 331-333.

17. Sayın F. *Eimeria* nina-kohl yakimovi (Yakimoff and Rastegaieff, 1930) in an Angora goat. Ankara Üniv Vet Fak Der 1964; 11: 136-144.

18. Sayın F, Dinçer Ş, Milli Ü. Ankara keçisinde *E. airlongi* (Marotel, 1905) Martin, 1909 ve *E. ovina* (Levine and Ivens, 1970) arasındaki ilişkiler. Ankara Üniv Vet Fak Der 1979; 25(1-2): 1-16.

19. Atasever A. Civcivlerde Deneysel *Eimeria tenella* Enfeksiyonunun Patolojik Bulguları Üzerinde Işık ve Elektron Mikroskobik İncelemeler. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1992.

20. Sayın F. Eimeriidae türlerinin genel biyolojik ve morfolojik özellikleri. In: Dinçer Ş, Sayın F (eds), Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın, İzmir, 2001: p 9-38.

21. Levine ND, Ivens V. Coccidian Parasites (Protozoa, sporozoa) of Rodents. II Biol Monogr No. 33 Univ III Press Urbana 1965.

22. Levine ND, Ivens V. Coccidian Parasites (Protozoa, sporozoa) of Rodents. III Biol Monogr No. 44, Univ III Press, Urbana 1970.

23. Sayın F. The species of *Eimeria* occuring in cattle in Turkey. Vet Fak Der VIII, 1970; 3: 311-326.

24. Sayın F, Dinçer Ş, Ümit M. The life cycle and patogenecity of *Eimeria arloingi* (Marotel,1905) Martin, 1909 In: Angora kids and an attempt at its transmission to lambs. Zbl Vet Med 1980; 27: 382-377.

25. Sayın F, Kahyaoğlu T, Çakmak A. Ege Bölgesinde (İzmir, Aydın, Manisa) koyun ve keçilerde *Eimeria* türlerinin tespiti. Ankara Üni Vet Fak Der 1986; 33(1): 90-96.

26. WEB_2. (2017). Coccidiosis. www.baycox.com. (09.07.2017).

27. Karaer Z, Nalbaltoğlu S. Coccidiosis epidemiyolojisi. In: Dinçer Ş (ed), Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği 2001: p 89-94.

28. Yun CH, Lillehoj HS, Lillehoj EP. Intestinal immun response to coccidiosis. Dev Comp Immunol 2000; 24: 303-324.

29. Levine ND. Protozoon parasites of domestic animals and man. Burgess, Publishing company, Minneapolis 1973.

30. Jordan FTW, Pattison M. Parasitic diseases. In: Poultry Diseases. WB Saunders Company Ltd, London, UK, 1996: p 261-289.

31. Kusiluka LJM, Kambarage Dm, Harrison LJS, Daborn CJ, Matthewman RW. Prevalance and seasonal patterns of coccidial infections in goats in two ecoclimate areas in Morogoro, Tanzania. Small Rumin Res 1998; 30: 85-91.

32. Ruff MD, Reid WM. Avian Coccidia. In: Kreier JP (ed), Parasitic Protozoa. Academic Press, USA, 1977: p 34-67.

33. Conway PD, McKenzie EM. Poultry Coccidiosis Diagnostic and Testing Procedures (3rd ed), Blackwell Publishing, 2007: 41-47.

34. Çakmak A, Vatansever Z. Coccidiosis'de tanı. In: Dinçer Ş (ed), Coccidiosis. Türkiye Parazitoloji Derneği, İzmir, 2001: p 127-132.

35. Rose ME, Mocket APA. Antibodies to coccidia: detection by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Paras Immunol 1983; 5: 479-489.

36. Onaga H, Saeki H, Hoshi S, Ueda S. An enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of coccidiosis in chickens: use of a single serum dilution. Avian Dis 1986; 30(4): 658-661.

37. Morrıs GM, Gasser RB. Biotechnological advances in the diagnosis of avian coccidiosis and the analysis of genetic variation in *Eimeria*. Biotechnol Adv 2006; 24(6): 590-603.

38. Güven E. Türkiye'de Broiler Yetiştiriciliğinde Coccidiosise Neden Olan *Eimeria* Türlerinin Saptanması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2010.

39. Blake DP, Hesketh P, Archer A, Shirley MW, Smith AL. *Eimeria maxima*: the influence of host genotype on parasite reproduction as revealed by quantitative real-time PCR. Int J Parasitol 2006; 36: 97-105.

40. Swinkels WJC, Post J, Cornelissen JB, et al. Immune responses in *Eimeria acervulina* infected one-day-old broilers compared to amount of *Eimeria* in the duodenum, measured by real-time PCR. Vet Parasitol 2006; 138: 223-233.

41. Yıldırım A, Düzlü Ö, İnci A, Önder Z, Çiloğlu A. Sığırlarda *Babesia bovis* ve *Babesia bigemina*'nın Reverse Line Blotting, Nested PCR ve Real Time PCR teknikleri ile karşılaştırmalı tanısı. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2013; 19 (5): 895-902.

42. Düzlü Ö, Yıldırım A, İnci A, Avcıoğlu H, Balkaya İ. Sığırlarda *Babesia bovis* ve *Babesia bigemina*'nın Real-Time PCR ile araştırılması ve izolatların moleküler karakterizasyonu. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2015; 62: 27-35.

43. Kirkpatrick NC, Blacker HP, Woods WG, et al. A polymerase chain reaction-coupled high-resolution melting curve analytical approach for the monitoring of monospecificity of avian *Eimeria* species. Avian Pathol 2009; 38(1): 13-19.

44. Vrba V, Blake DP, Poplstein M. Quantitative real-time PCR assays for detection and quantification of all seven *Eimeria* species that infect the chicken. Vet Parasitol 2010; 174: 183-190.

45. Yıldırım A, Düzlü Ö, İnci A. İç Anadolu Yöresinde Sığır Coccidiosis'ine Yol Açan Patojen *Eimeria* Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu ve Teşhiste Türe Özgü Real Time PCR Tekniğinin Geliştirilmesi. TÜBİTAK Proje No: 113 2015; O 597.

46. Hatırnaz M. Kayseri'nin Mahzemin Yöresindeki Sığırlarda Coccidiosis'e Yol Açan Patojenik *Eimeria* Türlerinin Moleküler Prevalansı ve Filogenetik Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2015.

47. Wallach M. The importance of transmission-blocking immunity in the control of infection by apicomplexan parasites. Int J Parasitol 1997; 27: 1159-1167.

48. Augustine PC. Cell: Sporozoit interaction and invasion by apicomplexan parasite of the genus *Eimeria*. Int J Parasitol 2001; 31: 1-8.

49. Banerjee DP, Gupta SK. Immun responses in chickens against *Eimeria tenella* sporozoite antigen. Vet Parasitol 1999; 81: 1-10.

50. Lillehoj HS. Role of T lymphocytes and cytokines in coccidiosis. Int J Parasitol 1998; 28: 1071-1081.

51. Soulsby EJL. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. Great Britain William Clowes Limited, Beccles and London, 1986.

52. Lillehoj HS, Ruff MD. Comparison of disease susceptibility and subclass-specific antibody response in SC and FP chickens experimentally inoculated with *Eimeria tenella*, *E. acervulina*, or *E. maxima*. Avian Dis 1987; 31: 112-119.

53. Onaga H, Ishii T. Effects of chicken anti-*Eimeria tenella* serum on the phagocytosis of sporozoites and merozoites by chicken peritoneal macrophages. Jpn J Vet Sci 1980; 42: 211-219.

54. Isobe T, Lillehoj HS. Dexamethasone suppresses T cell-mediated immunity and enhances disease susceptibility to *Eimeria mivati* infection. Vet Immunol Immunopathol 1993; 39: 431-446.

55. Trout JM, Lillehoj HS. *Eimeria acervulina* infection: evidence for the involvement of $CD8^{+}$T lymphocytes in sporozoite transport and host protection. Poultry Science 1995; 74: 1117-1125.

56. Lillehoj HS, Bacon LD. Intestinal intraepithelial lymphocytes expressing CD8 antigen are increased following challenge infection with *Eimeria acervulina*. Avian Dis 1991; 35: 294-301.

57. Jeurissen SHM, Veldman B. The interaction between feed (components) and *Eimeria* infection in poultry health. In: Blok MC, Vahl HA, de Braak L, Hemke G, Hessing M (eds), Nutrition and Health of the Gastrointestinal Tract. Wageningen Academic Publisher, Wageningen, The Netherlands, 2002: p 159-182.

58. Ovington KS, Alleva LM, Kerr EA. Cytokines and immunological control of *Eimeria spp.* Int J Parasitol 1995; 25: 1331-1351.

59. Williams RB. Epidemiological aspects of the use of live anticoccidial vaccines for chickens. Int J Parasitol 1998; 28: 1089-1098.

60. Lowenthal JW, O'Neil TE, David A, Strom G, Andrew ME. Cytokine therapy: A naturel alternative for disease control. Vet Immunol Immunopathol 1999; 72: 183-188.

61. Allen PC, Fetterer RH. Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. Clin Microbiol Rev 2002; 15 (1): 58-65.

62. Jeffers T. Tyzzer to tomorrow: Control of avian coccidiosis into the next millenium, In: Shirley MW, Tomley FM, Freeman BM (eds), Control of Coccidiosis Into the Next Millennium. 1997: p 16.

63. Elmusharaf MA, Beynen AC. Coccidiosis in poultry with emphasis on alternative anticoccidial treatments. In: Alternative Anticoccidial Treatment of Broiler Chickens, 2007.

64. Chapman HD, Cherry TE. Eye spraying vaccination: infectivity and development of immunity to *Eimeria acervulina* and *Eimeria tenella.* J Appl Poult Res 1997; 6: 274-278.

65. Ruff MD. Important parasite in poultry production systems. Vet Parasitol 1999; 84: 337-347.

66. Bowman DD. Georgis' Parasitology for Veterinarians (7th ed), WB. Saunders Company, Philadelphia, USA, 1999: 85-99.

67. Ruff MD, Danforth HD. Resistance of coccidia to medications. Proc. XX World's Poultry Congress 1966; 11: 427-430.

68. Chapman HD. Evaluation of the efficacy of anticoccidial drugs against *Eimeria* species in the fowl. Int J Parasitol 1998; 28: 1141-1144.

69. Jeffers TK. *Eimeria tenella*: sensitivity of recent field isolates to monencine. Avian Dis 1978; 22: 157-161.

70. McDougald LR, Fuller L, Solis J. Drug sensitivity of 99 isolates of coccidia from broiler farms. Avian Dis 1986; 30: 690-694.

71. McDougald LR. Coccidiosis. In: Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE (eds), Poultry Diseases. Iowa State Press, Iowa, USA 2003: p 974-991.

72. Chapman HD. Sensitivity of field isolates of *Eimeria* to monensin following the use of coccidiosis vaccine in broiler chickens. Poult Sci 1994; 73: 476-478.

73. Lillehoj HS, Trout JM. Coccidia: a review of recent advances on immunity and vaccine development. Avian Pathol 1993; 22: 3-21.

74. Lillehoj EP, Yun CH, Lillehoj HS. Vaccines against the avian enteropathogens *Eimeria, Cryptosporidium* and *Salmonella*. Anim Health Res Rev 2000; 1: 47-65.

75. Lillehoj HS, Lillehoj EP. Avian coccidiosis. A review of acquired intestinal immunity and vaccination strategies. Avian Dis 2000; 44: 408-425.

76. Rose ME, Hesketh P. Immunity to coccidiosis: stages of the life-cycle of *Eimeria maxima* which induce, and are affected by the responses of the host. Parasitology 1976; 73: 25-37.

77. Williams RB. Anticoccidial vaccines for broiler chickens: Pathway to success. Avian Pathol 2002; 31: 317-353.

78. McEvoy J. Safe limit for veterinary drug residues, what do they mean? Northern Ireland Veterinary Today 2001; 37-40.

79. Young R, Craig A. The use and misuse of antibiotics in the UK agriculture. Part 3. Resistance of dangerous drugs in intensively produced chicken meat and eggs, UK: The soil Association, 2001.

80. Farrant J. Ministers knock down six anticoccidials. Poultry World 2001; 155: 5.

81. Chapman HD, Cherry TE, Danforth HD, et al. Sustainable coccidiosis control in poultry production: The role of live vaccines. Int J Parasitol 2002; 32: 617-629.

82. Edgar SA, King DF. Breeding and immunizing chickens for resistance to coccidiosis. 62nd and 63rd Annual Reports of the Alabama Agric. Experiment Station. 1952; 36-37.

83. Lee EH. Vaccination against coccidiosis in commercial roaster chickens. Can Vet J 1987; 28: 434-436.

84. Shirley MW. Development of a live attenuated vaccine against coccidiosis of poultry. Parasite Immunol 1989; 11: 117-124.

85. Williams RB. The development, efficacy and epidemiological aspects of Paracox, a new Coccidiosis vaccine for chickens, Pitman Moore Europe, Harefield, UK 1992: 16.

86. Chapman HD, Cherry TE. Comparison of two methods of administrating live coccidiosis vaccines to newly hatched chicks: infectivity and development of immunity to *Eimeria* species. Proceedings VIth International Coccidiosis Conference, 1997, Oxford, UK.

87. Rose ME. *Eimeria, Isospora* and *Cryptosporidium.* In Immunology, Immunopathology, and Immuno-prophlaxis of Parasitic Infections. CRC Press, Boca Raton, 1987: 275-312.

88. Doelling VW, Martin A, Hutchins JE, Tyczkowski JK. Infectivity of *E. acervulina* oocysts, sporocysts and sporozoites with in ovo delivery. Proceedings of VIIth International Coccidiosis Conference, p 163-164, 2001, Palm Cave, Sydney, Australia.

89. Mathis G, Schaeffer Jon, Cookson K, et al. Effect of lasalocid or salinomycin administration on performance and immunity following coccidia vaccination of commercial broilers. J Appl Poult Res 2014; 23: 577-585.

90. Peek HW, Landman WJ. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. Vet Quart 2011; 31: 143-161.

91. Shirley MW, Smith AL, Blake DP. Challenges in the successful control of the avian coccidian. Vaccine 2007; 25: 5540-5547.

92. Belli SI, Kelly M, Skene CD, et al. Characterization of the antigenic and immunogenic properties of bacterially expressed, sexual stage antigens of the coccidian parasite, *Eimeria maxima*. Vaccine 2004; 22: 4316-4325.

93. Chapman HD. Biochemical, genetic and applied aspects of drug resistance in *Eimeria* parasites of the fowl. Avian Pathol 1997; 26: 221-44.

94. Wallace RJ, Oleszek W, Franz C, et al. Dietary plant bioactives for poultry health and productivity. Br Poult Sci 2010; 51: 461-487.

95. Dalloul RA, Lillehoj HS. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. Expert Rev Vaccines 2006; 1: 143-163.

96. Abbas RZ, Colwell DD, Gilleard J**.** Botanicals: An alternative approach for the control of avian Coccidiosis. Worlds Poult Sci J 2012; 68: 203-215.

97. Güler AG. Broyler Yetiştiriciliğinde Coccidiosis'ten Korunmada Betain ve Aşı Etkinliğinin Araştırılması, Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 2016.

98. Lee SH, Lillehoj HS, Dalloul RA, et al. Influence of *Pediococcus*-based probiotic on coccidiosis in broiler chickens. Poult Sci 2007; 86: 63-66.

99. Delzenne NM. Oligosaccharides: state of the art. Proc Nutr Soc 2003; 62: 177-182.

100. Webber GM, Frigg M. Effect of high level of vitamin C on coccidiosis infected chickens. Roche Symposium on Animal Nutrition and Health. Basel Village Neuf 1991: 141.

101. Klasing KC, Adler KL, Remus JC, Calvert CC. Dietary betaine increase intraepithelial lymphocytes in the duodenum of coccidia infected chicks and increase functional properties of phagocytes. J Nutr 2002; 132: 2274-2282.

102. Duszynski DW, Wilber PG. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. J Parasitol 1997; 83: 333-336.

103. Gajadhar AA. Host specificity studies and ookist description of a *Cryptosporidium* sp. isolated from ostriches. Parasitol Res 1994; 80: 316-319.

104. Velkers FC, Blake DP, Graat EA, et al. Quantification of *Eimeria acervulina* in faeces of broilers: comparison of McMaster ookist counts from 24h faecal collections and single droppings to real-time PCR from cloacal swabs. Vet Parasitol 2010; 169: 1-7.

105. Lalonde LF, Gajadhar AA. Highly sensitive and specific PCR assay for reliable detection of *Cyclospora cayetanensis* ookists. Appl Environ Microbiol 2008; 74: 4354-4358.

106. Morgan JA, Morris GM, Wlodek BM et al. Real-time polymerase chain reaction (PCR) assays for the specific detection and quantification of seven *Eimeria* species that cause coccidiosis in chickens. Mol Cell Probes 2009; 23(2): 83-89.

107. Shirley MW, Smith AL, Tomley FM. The biology of avian *Eimeria* with an emphasis on their control by vaccination. Adv Parasitol 2005; 60: 285-330.

108. Vermeulen AN, Schaap DC, Schetters TP. Control of coccidiosis in chickens by vaccination. Vet Parasitol 2001; 100(1-2): 13-20.

109. Haartsen PI, Elson HA. Economics of alternative housing systems. In: Kuit AR, Ehlhard DA, Blokhuis HJ (eds), Alternative Improved Housing System for Poultry. Publication of Europea Communities, Luxembourg, 1989: p 143-149.

110. Taşkın A, Karadavut U, Camcı Ö. Kırşehir ilinde serbest sistem yumurta tavukçuluğunun mevcut durumu ve geleceği. Doğu Karadeniz II Organik Tarım Kongresi, Rize, 6-9 Ekim 2015.

111. Kaboudi K, Umar S, Munir MT. Prevalence of coccidiosis in free-range chicken in Sidi Thabet, Tunisia. Scientifica 2016.

112. Ameji ON, Abdu PA, Sa'idu L, IsaOchepa M. Knowledge of poultry diseases, biosecurity and husbandry practices among stakeholders in poultry production in Kogi State, Nigeria. Sokoto J Vet Sci 2012; 10(2): 26-31.

113. Godwin RM, Morgan JAT. A molecular survey of *Eimeria* in chickens across Australia. Vet Parasitol 2015; 214: 16-21.

114. Babatunde SM, Mohammed BR, Simon MK, Agbede RIS. Coccidial infection in free-range and intensively managed chickens in Gwagwalada area Council, Abuja-Nigeria, Sub-Saharan Africa. Alexandria J Vet Sci 2016; 51(2): 183-188.

115. Methusela SK, Tilahun G, Hafez HM, Wolemesked M. Studies on poultry coccidiosis in different production systems in Debre Zeit and surrounding areas, Ethiopia. Bull Anim Health Prod Afr 2002; 50: 41-52.

116. Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Parasites of poultry and game birds. In: Anderson JM, Macfadyen A (eds), Veterinary Parasitology. Blackwell Publishing, Iowa State, USA, 2007: p 459-557.

117. Lawal JR, Jajere SM, Ibrahim UI, et al. Prevalence of coccidiosis among village and exotic breed of chickens in Maiduguri, Nigeria. Vet World 2016; 9(6): 653-659.

118. Adhikari A, Gupta R, Pant GR. Prevalence and identification of coccidian parasite (*Eimeria* spp.) in layer chicken of Ratnanagar Municipality, Chitwan district, Nepal. J of Nat Hist Mus 2009; 23: 45-50.

119. Başkaya H, Mimioğlu MM, Pamukçu AM. Ankara'da civciv ve piliçlerde görülen coccidiosis olayları üzerine araştırmalar. Türk Vet Hekim Der Derg 1952; 22(72-73): 294-317.

120. Oytun Hİ. Civciv koksidiyozuna karşı sulphamezathine ile tedavi. Türk Vet Hek Dern Derg 1952; 280-284.

121. Meydani C. Tavuk Koksidiyozisi Üzerine Furazin Likit, Koksidin ve Sülphamezatin'in Proflaktik Etkileri Yönünden Uygulanan Deneysel Araştırmalar. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Modern Matbaa, Ankara, 1966.

122. Merdivenci A. Türkiye Parazitleri ve Parazitolojik Yayınları. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fak Yay, 1610/9, Kutulmuş matbaası, İstanbul, 1970; s 20.

123. Demir S. Bursa Bölgesi Tavuklarında Coccidios Etkenleri ve Bunların Yayılışı. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 1991.

124. Gürel A. Elâzığ yöresinde tavuklarda bulunan Coccidia türleri ve indensi üzerine araştırmalar. Etlik Vet Mikrob Derg 1992; 7(2): 145-147.

125. Sarı B. Etlik Piliçlerde Coccidiosis'den Korunmada Anticoccidial Katkılı Yem Uygulamalarının Etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2004.

126. Karaş Duman G. Etlik Piliçlerde Canlı Aşı Uygulamalarının Koksidiyozdan Korunmadaki Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2004.

127. Karaer Z, Güven E, Akçay A, ve ark. Prevalence of subclinical coccidiosis in broiler farms in Turkey. Trop Anim Health Prod 2012; 44(3): 589-594.

128. Güven E, Beckstead RB, Kar S, Vatansever Z, Karaer Z. Molecular identification of *Eimeria* species of broiler chickens in Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2013; 60: 245-250.

129. Ayaz M, Akhtar M, Hayat CS, Hafeez MA, Haq A. Prevalence of coccidiosis in broiler chickens in Faisalabad, Pakistan. Pak Vet J 2003; 23: 51-52.

130. Hadipour MM, Olyaie A, Naderi M, Azad F, Nekouie, O. Prevalence of *Eimeria* species in scavenging native chickens of Shiraz, Iran. Afr J Microbiol Res 2011; 5: 3296-3299.

131. Hamidinejat H, Shapouri MS, Mayahi M, Borujeni MP. Characterization of *Eimeria* Species in commercial broilers by PCR based on ITS1 regions of rDNA. Iran J Parasitol 2010; 5(4): 48-54.

132. Kumar S, Garg R, Banerjee PS, et al. Genetic diversity within ITS-1 region of *Eimeria* species infecting chickens of north India. Infect Genet Evol 2015; 36: 262-267.

133. McDougald LR, Fitz-Coy SH. Coccidiosis in Diseases of Poultry. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, USA, 2008: p 1068-1085.

134. Györke A, Pop L, Cozma V. Prevalence and distribution of *Eimeria* species in broiler chicken farms of different capacities. Parasite 2013; 20: 50.

135. You MJ. Detection of four important *Eimeria* species by multiplex PCR in a single assay. Parasitol Int 2014; 63(3): 527-532.

136. Aarthi S, Raj GD, Raman M, Gomathinayagam S, Kumanan K. Molecular prevalence and preponderance of *Eimeria* spp. among chickens in Tamil Nadu. Parasitol Res 2010; 107: 1013-1017.

137. Bhaskaran MS, Venkatesan L, Aadimoolam R, Tirunelveli Jayagopal H, Sriraman R. Sequence diversity of internal transcribed spacer-1(ITS-1) region of *Eimeria*

infecting chicken and its relevance in species identification from Indian field samples. Parasitol Res 2010; 106: 513-521.

138. Carvalho FS, Wenceslau AA, Teixeira M, et al. Diagnosis of *Eimeria* species using traditional and molecular methods in field studies. Vet Parasitol 2011; 176, 95-100.

139. Kumar S, Garg R, Moftah A, et al. An optimised protocol for molecular identification of *Eimeria* from chickens. Vet Parasitol 2014; 199: 24-31.

140. Lalonde LF, Gajadhar AA. Detection and differentiation of coccidian oocysts by real-time PCR and melting curve analysis. J Parasitol 2011; 97: 725-730.

141. Gajadhar AA, Allen JR. Factors contributing to the public health and economic importance of waterborne zoonotic parasites. Vet Parasitol 2004; 126: 3-14.

142. Gasser RB. Molecular tools-advances, opportunities and prospects. Vet Parasitol 2006; 136: 69-89.

143. Stucki U, Braun R, Roditi I. *Eimeria tenella*: Characterization of a 5S ribosomal RNA repeat unit and its use as a species specific probe. Exp Parasitol 1993; 76: 68-75.

144. Tsuji N, Kawazu S, Ohta M, et al. Discrimination of eight chicken *Eimeria* species using the two-step polymerase chain reaction. J Parasitol 1997; 83: 966-970.

145. Pangasa A, Jex AR, Campbell BE, et al. High resolution melting-curve (HRM) analysis for the diagnosis of cryptosporidiosis in humans. Mol Cell Probes 2009; 23: 10-15.

146. Ramirez NE, Sreevatsan S. Development of a sensitive detection system for *Cryptosporidium* in environmental samples. Vet Parasitol 2006; 136: 201-213.

147. Rauter C, Oehme R, Diterich I, et al. Distribution of clinically relevant *Borrelia* genospecies in ticks assessed by a novel, single-run, real-time PCR. J Clin Microbiol 2002; 40: 36-43.

148. Safeukui I, Millet P, Boucher S, et al. Evaluation of FRET real-time PCR assay for rapid detection and differentiation of *Plasmodium* species in returning travellers and migrants. Malaria J 2008; 7: 70.

149. Schulz A, Mellenthin K, Schonian G, et al. Detection, differentiation, and quantitation of pathogenic *Leishmania* organisms by a fluorescence resonance energy transfer-based real-time PCR assay. J Clin Microbiol 2003; 41: 1529-1535.

150. Varga A, James D. Detection and differentiation of Plum pox virus using real-time multiplex PCR with SYBR Green and melting curve analysis: a rapid method for strain typing. J Virol Methods 2005; 123: 213-220.

151. Graham R, Liew M, Meadows C, et al. Distinguishing different DNA heterozygotes by high-resolution melting. Clin Chem 2005; 51: 1295-1298.

152. Zhou L, Myers AN, Vandersteen JG, et al. Closed-tube genotyping with unlabeled oligonucleotide probes and a saturating DNA dye. Clin Chem 2004; 50: 1328-1335.

153. Schnitzler BE, Thebo PL, Mattsson JG, Tomley FM, Shirley MW. Development of a diagnostic PCR assay for the detection and discrimination of four pathogenic. *Eimeria* species of the chicken. Avian Pathol 1998; 27: 490-497.

SAMSUN YÖRESİNDEKİ TAVUKLARDA EIMERIA TÜRLERİNİN REAL TİME PCR İLE ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%6	%5	%4	%
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
2	vetdergi.kafkas.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
3	GÜVEN, Ersin, B.BECKSTEAD, Robert, KAR, Sırrı, VATANSEVER, Zati and KARAER, Zafer. "Molecular identification of Eimeria species of broiler chickens in Turkey", Ankara Üniversitesi, 2013. Yayın	%1
4	www.aku.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
5	ercivet.erciyes.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	atrium.lib.uoguelph.ca İnternet Kaynağı	<%1
7	DÜZLÜ, Önder, İNCİ, Abdullah, YILDIRIM,	<%1

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Çağrı ASLAN

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Doğum Tarihi ve Yeri: 8 Mayıs 1985, Samsun

Medeni Durumu: Evli

Tel: +90 537 2169946

e-mail: aslan5552@gmail.com

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Melikgazi/ KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum
Lise	Kızılırmak YDA Lisesi/ Samsun
Lisans	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Yüksek Lisans Parazitoloji	Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2014	Yeşil Küre Organik Ürünler A.Ş.	Veteriner Hekim

YABANCI DİL İngilizce