

RUMİNANLARDA AKCİĞER VE MİDE-BAĞIRSAK KILKURTLARINA KARŞI ANTELMİNTİK ETKİNLİĞİN DEĞERLENDİRİLMESİ

The Evaluation of the Efficacy of Anthelmintics Against Gastrointestinal Nematodes and Lungworms in Ruminants.

Yunus GİCİK*

ÖZET

Piyasaya yeni sunulan terapötik ve profilaktik antelmintik ürünlerin parazit helminlere karşı etkilerini araştırmak, rezistans denemeleri yapmak, antelmintik aktivite süresini tespit etmek için dünyanın her tarafında denemeler yapılmaktadır.

Yapılan denemelerde bir standart sağlanması ve sonuçların daha kolay değerlendirilebilmesi için W.A.A.V.P. (Dünya Parazitoloji Birliği) tarafından deneme şekilleri tarif edilmekte ve yapılan bir denemenin orijinalliği açısından bu tarife uygun hareket edilmesini istemektedir.

Bu makalede, ruminantlarda yaygın olarak görülen mide-bağırsak ve akciğer kılkurtlarına karşı yapılan antelmintik aktivite deneme yöntemleri hakkında geniş bilgi sunulmuştur.

Anahtar Sözcükler: Antelmintik, Etkinlik, Deneme, Ruminant.

SUMMARY

Trials for anthelmintic evaluation are performed on a new therapeutic and prophylactic product for the determination of some factors such as anthelmintic efficacy, the period of anthelmintic activity, anthelmintic resistance against parasitic helminths, and the effect on the productivity of animals.

World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) suggests some trial methods for evaluating the results of trials easily, and for supplying a standardization in the studies.

In this article, detailed information is given about trial methods for evaluating the efficacy of anthelmintics against gastrointestinal nematodes and lungworms in ruminants (bovine, ovine, caprine).

Key Words: Anthelmintic, Efficacy, Trial, Ruminant.

GİRİŞ

Her geçen gün dünyanın birçok bölgesinde bilim adamları tarafından yeni parazitolojik yöntemler tarif edilmekte, değişik test metodları gerektiren yeni terapötik ve profilaktik ürünler piyasaya sürülmektedir. Özellikle 1982 yılından sonra ruminantlarda yaygın olarak bulunan parazit nematodlara karşı, uygun dozlarda kullanıldığında % 80-89 (yetersiz etki), % 90-98 (orta derecede etki), % 98 ve üzeri (yüksek oranda etki)'nde etkili antelmintikler geliştirilmiştir. Dünya Parazitoloji Birliği (W.A.A.V.P.) yeni ürünlerin deneme yöntemlerini tarif etmekte ve antelmintik etkinlik denemelerinin buna göre düzenlenmesini istemektedir. Bu birlik deneme sonuçlarının değerlendirilmesinin yapılarak diğer araştırmacılara ulaştırılması işlevini de yürütmektedir.

Belirlenen yöntemlere bağlı kalınmasının istenmesindeki amaç, tüm helmint gruplarında antelmintik etkinliğin değerlendirilmesi, doz titrasyon (etkin dozun belirlenmesi), doz konfirmasyon (belirlenmiş olan etkin dozun teyit edilmesi) ve klinik denemelerde bir standart sağlamaktır (1,2).

A. STANDARDIZASYON ÇALIŞMALARI

Antelmintik etkinliğin değerlendirilmesinde, bu birliğin önerilerine uyulması ile;

1) Hayvanların tespiti, enfekte edilmeleri ve parazitlerin toplanmasında,

2) Terapötik ve profilaktik antelmintiklerin test yöntemlerinde,

3) Deneme verilerinin istatistiki öneminin tayininde ve

* Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kars-Türkiye.

4) Deney kayıtlarının tutulmasında standardizasyon sağlanacaktır (1-4).

B. GENEL İŞLEMLER

B.1. Standart antelmintik testleri

Ruminantlarda antelmintik etkinin değerlendirilmesi için başlıca iki test yapılmaktadır (1,5-9).

B.1.1. Kontrol test: Bu testte bir antelmintik etkinliği, tedavi ve kontrol grubu hayvanlardaki parazit popülasyonunun karşılaştırılması ile tayin edilir. Ruminantlarda antelmintik aktivitenin değerlendirilmesi için çok güvenilir bir metot olup, doz belirleme ve doz teyit denemelerinde kullanılmaktadır (1,7,10,11).

Parazitli oldukları birtakım parazitolojik yöntemler ile belirlenen hayvanlar tedavi ve kontrol grubu olarak rastgele ikiye ayrılırlar. Tedaviden uygun bir zaman sonra nekropsi yapılır, parazitler sayılır ve identifiye edilirler. Antelmintik etkinlik oranı ise şöyle hesaplanır;

$$\% \text{ Etkinlik} = \frac{\text{Kont. grubu ort. parazit sayısı} - \text{Ted. grubu ort. parazit sayısı}}{\text{Kontrol grubunun ortalama parazit sayısı}} \times 100$$

Klinik denemelerde ise parazitlerin dışkı ile dışarı atılan formları (larva, yumurta)'nın sayısı karşılaştırılarak etkinlik tayini yapılır. Bu durumda formüldeki ortalama parazit sayısı yerine ortalama larva veya yumurta sayısı konur (12-16).

Bir hayvan grubundaki nematod popülasyonunun dağılımını ve ürünün etkinlik derecesini daha doğru yansıtmaya sebebiyle geometrik ortalama kullanılmaktadır (5-7,17-19).

B.1.2. Kritik test: Bu testte ise antelmintik etkinliği tedavi edildikten sonra dışkı ile harice atılan parazit sayısı ile nekropsi sonucu hayvanda kalan parazit sayısının karşılaştırılmasıyla tayin edilir. Bu metot dışkı ile atılan parazitlerin ayırt edilebildiği köpek, at, domuz gibi tek mideli hayvanlarda sıklıkla yapılır. Ruminantlarda birçok nematod türüne karşı antelmintik etkinliğin değerlendirilmesinde bu test önerilmemekle beraber dışkı ile bozulmadan atılan *Oesophagostomum* ve *Chabertia* cinsi parazitlerde uygulanabilir (2).

B.2. İstatistikî yöntemler ve grupların oluşturulması

B.2.1. İstatistikî yöntemler: Araştırmacılar bir çalışmaya başlamadan önce deneyin amacını belirlemeli ve elde edeceği sonuçları değerlendirebilecek bir istatistikî yöntem tespit etmelidirler. Deneyin şekli bu yöntemdeki sorulara cevap verebilecek şekilde tanzim edilmelidir (1,11,17).

B.2.2. Hayvanların gruplara ayrılması: Hayvanlar uygun bir istatistikî metot ile, örneğin; numaraları rastgele ortadan ikiye bölerek veya numaralardan bir fihrist hazırlanması ile (bir sağa, iki sola, üç sağa, dört sola,...) tedavi ve kontrol grubu olarak belirlendikten sonra parazitlerle enfekte edilirler. Daha sonra enfekte edilen gruptaki hayvanlar da yine gelişigüzel olarak alt tedavi gruplarına ayrılırlar. Hayvanların ağırlık, yaş, cinsiyet gibi faktörleri esas alınarak gruplar oluşturulabilir. Eğer doğal enfekte hayvanlar kullanılıyorsa, hayvanlardaki yumurta veya larva sayıları esas alınarak yapılan bir gruplandırma ile yüksek üniformiteye ulaşılabilir (2,7,15,20,21).

B.3. Hayvan seçimi ve bakımı

B.3.1. Hayvan seçimi: Gruplardaki hayvanlar yaş, cinsiyet, ırk ve enfeksiyonun oluş şekli bakımından benzer olmalıdırlar. Ürün, oral sıvı olarak veriliyorsa hayvanlar geviş getiriyor olmalıdırlar. Hayvanların yaşı, *Toxocara vitulorum* ve *Strongyloides papillosus* gibi daha genç hayvanlarda görülen parazitlere karşı etkinlik araştırılmıyorsa, 3-6 aylıktan büyük olmalıdır (6,7,22,23).

B.3.2. Bakım ve Besleme: Hayvanların adaptasyonu açısından denemenin başlamasından 14 gün öncesinden denemenin sonuna kadar aynı beslenme programının uygulanması ve aynı şartlar altında barındırılmaları gereklidir (1,2,7,21,22)

B.3.3. Sağlık Kontrolleri: Bütün hayvanlar tedavi öncesi, sırası ve sonrasında bir anormallik olup olmadığının anlaşılması için izlenmeye alınmalı ve bulgular kaydedilmelidir. Deneme süresi içerisinde hayvanlara uygulanan antibiyotik, aşı ve ektoparazitler ilaçlar gibi destekleyici tedavilerin tamamı kaydedilmelidir (1,2,7,20,21).

B.4. *Gastrointestinal nematodlara karşı yapılan denemeler*

Eğer mümkünse etkinlik durumu olgunlara, larvalara ve uygulandığı anda varsa hipobiyotik larvalara yönelik olarak ayrı ayrı açıklığa kavuşturulmuş olmalıdır (7,10,15-17,24).

B.4.1. *Suni enfeksiyon oluşturulması*: Doz belirleme denemelerindetercihen, doz teyit denemelerinde ise sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Suni enfeksiyon oluşturulmasının amacı, aynı anda birçok nematot türü ile yoğun enfeksiyon oluşturmak ve bunlara karşı deney so-

Tablo 1. Suni enfeksiyon oluşturmak için gerekli enfektif larva sayıları (2,10,19,25)
Table 1. The number of infective larvae for the experimental infection

Hayvan Türü	Parazit Türü	İnokule Edilecek Larva Sayısı
SİĞİR	Haemonchus placei	5.000-10.000
	Ostertagia ostertagi	10.000-20.000
	Trichostrongylus axei	10.000-15.000
	Cooperia oncophora	10.000-15.000
	Cooperia pectinata	10.000-15.000
	Cooperia punctata	10.000-15.000
	Nematodirus spathiger	3.000-6.000
	Bunostomum phlebotomum	1.000
	Oesophagostomum venulosum	1.000-2.000
	Chabertia ovina	1.000
	Strongyloides papillosus	200.000
KOYUN VE KEÇİ	Haemonchus contortus	2.500-4.000
	Teladorsagia circumcincta	5.000-10.000
	Trichostrongylus axei	3.000-6.000
	Trichostrongylus colubriformis	3.000-6.000
	Trichostrongylus vitrinus	3.000-6.000
	Cooperia curticei	3.000-6.000
	Nematodirus sp.	3.000-6.000
	Oesophagostomum columbianum	800
	Oesophagostomum venulosum	1.000
	Bunostomum trigonocephalum	1.000 (derialtı)
	Chabertia ovina	800
	Strongyloides papillosus	80.000 (derialtı)
	Gaigeria pachyscelis	400 (deriçi)

nuçlarını elde etmektir. Ayrıca yayılışı az olan türlerin genç ve olgun formlarına karşı antelmintik etkinin araştırılması, doz tayini ve tedavi amacına yöneliktir (1-3,11,25).

Enfeksiyondan önce hayvanlar muayene edilmeli ve enfekte olanlar, antelmintik direnç geliştirme özelliğinin olmadığı test edilmiş, geniş spekturumlu bir ilacın terapötik dozunun iki katı ile tedavi edilmelidirler. Helmint taşımayan hayvanlar elde etmek amacıyla, tedavi sonrasında dışkı muayenesi yapılmalıdır. Avermektinler, milbemisün veya benzeri ilaçların etkisi uzun olduğu için kullanılmamalıdır. Eğer bu ilaçlardan herhangi birinin kullanılması gerekiyorsa, tedaviden en az bir ay sonra enfeksiyon oluşturulmalıdır (7,10,13,25).

B.4.1.1. İnokule edilmesi gereken larva sayısı: Antelmintik etkinlik denemelerinde yeterli derecede enfeksiyon oluşturulması için verilmesi gereken enfektif larva sayısı Tablo 1'deki gibidir (2,10,19,25).

B.4.1.2. Birden fazla parazit türü ile enfeksiyon oluşturulması: Bu durumda Tablo 1'de bildirilen sayılardan daha az sayıdaki enfektif larvanın karıştırılması ile yeterli derecede enfeksiyon sağlanabilir (10,19,25,26).

B.4.1.3. Hipobiyotik larvalara karşı yapılan denemeler: *Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Cooperia*, *Haemonchus* gibi nematodlar ile doğal enfekte hayvanlarda yapılması uygundur. Hayvanlarda bu tür enfeksiyon yakalanamaz ise bekletilmiş üçüncü dönem larvalar ile suni olarak oluşturulabilir (2,10).

B.4.1.4. Larva süspansiyonu hazırlanması ve hayvanlara verilmesi: Enfeksiyon oluşturmak için temel ihtiyaç tek tür enfektif larva içeren bir süspansiyondur. Enfektif larva bermanizasyondan elde edilebileceği gibi, bir kültür kavanozunun iç yüzeyinin üst kısımlarının yıkanması ile de elde edilebilir. Hipobiyozisi en aza indirmek için yeni toplanmış larvalar (7-10 günlük) kullanılmalıdır. Bu süre *Strong-*

Tablo 2. Multipl enfeksiyon oluşturulurken birlikte kullanılacak helmint türleri (10,19,25,26).
Table 2. The helminth species will be used together with the multiple infection.

Hayvan Türü	Ilıman İklim	Tropikal İklim
SİĞİR	<i>O. ostertagi</i>	<i>H. placei</i>
	<i>H. placei</i>	<i>O. ostertagia</i>
	<i>T. axei</i>	<i>T. axei</i>
	<i>Cooperia</i> sp.	<i>Cooperia</i> sp.
	<i>N. helvetianus</i>	<i>Oesophagostomum radiatum</i>
	<i>D. viviparus</i>	
KOYUN ve KEÇİ	<i>Oesophagostomum radiatum</i>	<i>B. phlebotomum</i>
	<i>H. contortus</i>	<i>T. axei</i>
	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	<i>N. spathiger</i>
	<i>T. colubriformis</i>	<i>B. trigonocephalum</i>
	<i>T. vitrinus</i>	<i>Chabertia ovina</i>
	<i>Oesophagostomum columbianum</i>	<i>S. papillosus</i>
	<i>D. filaria</i>	

yloides papillosus'ta azami 36 saattir. Larva süspansiyonunun saklanması gereken en uygun ısı 4-10 °C dir (2,5,7,10,13,19,25).

B.4.1.5. Larvaların gömlek değişmesi ve

prepatent süreler: Gömlek değiştirme ve olgunlaşma sürelerinin bilinmesi, tedavi ve nekropsi takviminin belirlenmesi ve değişik türler ile multipl enfeksiyon oluşturulması için gereklidir.

B.4.2. Doğal enfeksiyonlarda:

B.4.2.1. Olgun nematodlara karşı: Doğal enfekte hayvanlar genellikle doz teyit ve klinik denemelerde kullanılır. Hayvanlarda bulunan nematod türlerini, nispi yoğunluk derecelerini ve tedavi öncesinde enfeksiyonun durumunu tespit etmek amacıyla, dışkıında yumurta bulunan 2-3 hayvanın nekropsisi veya dışkı yumurta sayımı yapılabileceği gibi hayvanların % 5-10'undan alınan dışkılarıdaki larvaların ayırımı da yapılabilir (24,26,27). Eğer yumurta sayımı yapılıyorsa, hatalı sonuçlar almamak için günün hep aynı saatlerinde dışkı numuneleri alınmalıdır (14).

Siğir ve koyunlarda şiddetli doğal enfeksiyon oluşturma en iyi yolu doğal olarak ağır

şekilde kontamine olduğu bilinen çayırlarda otlatmaktır. Çayırların kontaminasyon derecesinin bilinmesi ya otlatılan hayvanların kontrolü ya da otlarda larva sayımı ile olur (12).

Olgun parazitlere karşı yapılan denemelerde (*Toxocara vitulorum* hariç), yalnızca dışkıında yumurta veya larva bulunan hayvanlar kullanılmalıdır. Olgun *Toxocara vitulorum*'a karşı yapılan denemelerde, bu askarit ile doğal enfekte olduğu bilinen sığırlardan süt emzirilerek enfeksiyon oluşturulduktan sonra denemeye geçilir. Süt emzirmeyi takip eden 21-25. günlerde tedavi yapılmalıdır. Çünkü artık larvalar olgunlaşmıştır. Tedaviden sonraki 4-7. günlerde de nekropsisi ile sonuçlar değerlendirilmelidir (6,10,16,18,24,28).

Tablo 3. Nematod larvalarının gömlek değiştirme ve olgunlaşma süreleri (2,3,19).
Table 3. The moulting and maturation periods of the some nematod larvae.

Hayvan Türü	Parazit Türü	3.Gömlek değ. (gün)	4.Gömlek değ. (gün)	Olgunlaşma (gün)
SİĞİR	H. placei	1-5	12-14	26-28
	O. ostertagi	3	10	18-23
	T. axei	4-6	10-14	18-21
	Cooperia sp.	2	8	11-14
	N. spathiger	5	10-12	14-16
	N. helvetianus	8	15	21-26
	B. phlebotomum	8	21-25	52-56
	Oesophagostomum radiatum	8-9	19	35-41
KOYUN ve KEÇİ	H. contortus	1-5	9-11	18-21
	Teledorsagia circumcincta	3	7-9	17-21
	T. axei	4-6	10-14	21
	T. colubriformis	3	6-9	21
	T. vitrinus	3	6-9	21
	Cooperia sp.	2	8	13-14
	N. spathiger	5	10-12	14-16
	N. battus	5	10-12	14-16
	Oesophagostomum columbianum	8	21-25	56
	B. trigonocephalum	9	20-22	49-70
	G. pachyscelis	8	21-25	46-51
	Chabertia ovina	7-8	24-25	42-49
	S. papillosus	3	6	9

B.4.2.2. *Hipobiyotik larvalara karşı:* Hipobiyozis umulduğu bir sezonda bu larvaları taşıması muhtemel olan uygun sayıdaki bir hayvan topluluğu seçilmelidir. Sürünün hipobiyotik larva taşıyıp taşımadığını kontrol için rastgele seçilmiş 2-3 hayvanın nekropsisi yapılır (2,10).

B.5. Tedavi işlemleri

Tedavi, başlangıç ağırlıklarına göre günün aynı saatinde ve bütün gruba uygulanır. Tedavi dozunun tekrarlanması durumunda dikkat edilmesi gereken husus bütün hayvanlarda uygulama aralıklarının aynı tutulmasıdır.

İlacın gıdalar ile karıştırılarak verilmesi durumunda, ilaç konsantrasyonunu ayarlayabilmek için, ilaçlanmış gıda numunelerinin 1 ay önceden analizleri yaptırılmalıdır. İlaç su ile veriliyorsa, deneme öncesinde ve esnasında hayvanların tükettiği su miktarı kaydedilmelidir (7,9,17-19).

Topikal (deriye dökülerek) ürünler kullanılacağı zaman, tedavi esnasındaki yağmur durumu, tedaviden sonraki 24 saat için ısı ve nem oranı, yapağı ve kıl durumu (uyuzdan dolayı meydana gelebilen kabuklanma, çamur ve dışkı bulaşması), bakım ve beslenme yöntemleri (silerek veya su ile temizleme) dikkate alınmalıdır (1,2,7,29).

Aşağıdaki tedavi programı suni enfeksiyonlar için geçerlidir.

a) *Olgunlara karşı:* Nematodların çok büyük bölümü için enfeksiyondan sonraki 21-25. günlerden önce tedavi yapılmamalıdır. En uygun süre 28-35. günlerdir. *Strongyloides* türlerinde bu süre 14-16., *Oesophagostomum* türlerinde 34-41., *Bunostomum* türlerinde ise 52-65. günlerdir. Yani prepatent süre göz önüne alınmalıdır (7,10,20,25).

b) *L₄'e karşı:* *Strongyloides* türleri için 3-4. gün, *Nematodirus* türleri için 8-10. gün ve *Oesophagostomum* türleri için 15-17. günde ilaç uygulanmalıdır. Kalan parazitlerin kolay toplanabilmeleri için olgunlaşmalarına izin verilmelidir (7,10).

c) *L₃'e karşı:* Bütün nematod türlerinde etkenin verilışinden sonraki 2. günde, *Haemonc-*

hus türleri için 1. günde ilaç uygulanmalıdır (2,25).

B.6. Nekropsi işlemleri

1- *Nekropsi ile tedavi arası süre:* Ürünün farmakokinetiği ve etki süresi göz önüne alınarak belirlenir. Parazit türüne göre etki süresi değişebileceğinden nekropsi takvimi de değişecektir (7,25).

Oral, topikal ve parenteral ürünlerin terapötik seviyeye ulaşma ve aktivite süresi kısadır. Olgun parazitlere karşı bu şekilde kullanılan ürünlerin etkinliğinin araştırıldığı denemelerde nekropsi, tedaviden 4-7 gün sonra, larval formlar ve genç olgunlar için olgunlaşma süresinin en sonunda yapılmalıdır. Proflaktik ürünler ile yapılan denemelerde etki süresi uzun olacağından tedavi ile nekropsi arasında haftalar hatta aylar olacaktır (1,4,7,11,17,25).

2- *Nekropsinin programlanması:* Bir gün içinde tamamlanması mümkün değilse, günlük olarak her gruptan eşit sayıda hayvanın nekropsisi yapılmalı ve bu işlem en fazla 3-4 günde (mümkün olan en kısa sürede) tamamlanmalıdır (11,25).

3- *Nekropsi tekniği:* Gastrointestinal sistemden numune alınması için uygulanan yöntem bütün hayvanlar için aynı olmalıdır. (6,7,19,25).

B.7. Laboratuvar işlemleri

Nematodlar uygun yöntemler ile toplanarak identifikasyon ve sayımları yapılır. *Bunostomum*, *Trichuris*, *Oesophagostomum* ve *Chabertia* türlerinin toplam sayılarını bulmanın en iyi yolu, mukozanın direkt muayenesi ve bağırsak içeriğinin tamamının incelenmesidir (2,10,13,25).

B.8. Kayıtlar ve raporlar

Deneme sonuçlarının yayınlanması sırasında gerekli olacağı için bütün aktivitelerin kayıt edildiği bir defter (deneme kayıt defteri) tutulmalıdır. Ayrıca etkinlik durumunu anlatan bir özet hazırlanmalı ve yayınlanmalıdır. (1,2,7).

C. SPESİFİK DEĞERLENDİRME DENE- MELERİ

Yeni bir antelmintiğin değerlendirilmesinde etkin olarak kullanılan 3 tip deneme yöntemi vardır. Bunlar; doz belirleme, doz teyit ve klinik denemelerdir. Ayrıca bu ürünün antelmintiklere dirençli parazitlere karşı etkinliğinin değerlendirilmesi, antelmintik aktivitesi süresi ve prof-laktik ürünlerin değerlendirilmesi için özel de-neme yöntemleri vardır.

C.1. Doz belirleme (titration) denemeleri

1. *Amaç:* Bir ürünün çeşitli parazit türlerinin değişik gelişme dönemlerinin kontrolünde etkili olan dozunun tespit edilmesidir. Bu denemeler ile ürüne karşı en az duyarlı parazitleri tespit et-me imkanı da vardır.

2. *Grupların oluşturulması ve verilecek olan dozlar:* Dört grup hayvan ile yapılır. Birinci grup etkili olduğu iddia edilen doz, 2. grup bu dozun yarısı, 3. grup bu dozun iki katı ilaç ve-rilecek olan tedavi gruplarına ayrılırken, 4. grup kontrol grubu olarak tutulur ve ilaç verilmez. (1,2,7,11,25).

Sonuçların istatistiki açıdan önemlilik gösterebilmesi için ($p<0.05$) suni oluşturulmuş enfeksiyonlarda (larva inokulumu ile) her grup-ta 5 hayvan yeterli olurken doğal ve ağır kon-tamine çayırlara hayvanların bırakılması ile oluşturulan enfeksiyonlarda bu sayı 6 olmalıdır. Orta dereceli çayırlarda doğal olarak enfekte edilen hayvanların kullanılması tavsiye edil-memektedir (2).

3. *Etkinliğin değerlendirilme kriterleri:* Her-bir parazit popülasyonunda kontrol ve tedavi grupları arasında görülen istatistiki açıdan önemli değişiklikler etkinliğin kanıtı olarak değerlendirilmelidir (2,4,11).

C.2. Doz teyit (confirmation) denemeleri

1. *Amaç:* Doz titrasyon denemeleri ile tespit edilmiş olan etkin dozun teyit edilmesi, doğ-ruluğunun araştırılmasıdır.

2. *Hayvanların gruplandırılması ve verilecek olan dozlar:* Biri kontrol grubu olmak üzere toplam 3 grup hayvan kullanılır. Tedavi grup-larının birine etkin doz, ikincisine etkin dozun iki katı ilaç verilir. Üçüncü grup kontrol grubu olup, ilaç uygulanmaz. Kullanılacak olan hay-van sayısı doz titrasyon denemelerindeki gibidir (6,28). Ancak hayvanlar orta derecede kon-tamine çayırlardan alındıkları takdirde, her gruptaki hayvan sayısı en az 10 olmalıdır (6,11,17,29).

3. *Enfeksiyonun şekli:* Denemeler mümkün-se, doğal olarak multipl enfeksiyon oluştuğunda yapılmalıdır. Olgun parazitlere karşı yapılan de-nemelerde, öncelikle hayvanların dışkısında pa-razit yumurtası veya larvası aranır. Bu lar-vaların ayrımı ve sayımı daha iyi fikir verir (2,13,24,30).

Nematodirus ve Gaigeria türlerinin larval formlarına karşı etkin dozun teyidi amacıyla doz konfirmasyon denemelerinde genellikle en-feksiyonun suni olarak oluşturulması gerekir (1,3).

Nematod larva ve olgunlarına aynı anda de-neme yapılması: Birçok nematod türü ve bun-lara ait değişik gelişme dönemlerine karşı bir ürünün etkinlik verilerini elde etmek için en uy-gun metot, hayvanlara birkaç gün boyunca birçok tür parazit larvasının karıştırılması ile oluşturulan inokulum verilmesidir (**trickle en-feksiyon=damla enfeksiyonu**). Bu uygulama sayesinde özellikle larval ve genç nematodlara karşı bir ürünün etkinliğinin değerlendirilme-sinde gerekli hayvan sayısı büyük oranda azaltılır (3,11).

Sığır, koyun ve keçilerde trickle enfeksiyon oluşturulabilir. İzlenecek yol aşağıdaki gibi olup, etkin doz ile tedavi günü sıfırncı gündür.

a) Sığırlarda L_4 ve genç parazitler için; 33 genç, parazitsiz buzağı biri kontrol olmak üzere 3 gruba (her grupta 11 hayvan) ayrılır. Her 3 grupta Tablo 4'deki gibi enfeksiyon oluşturul-duktan sonra tedavi ve nekropsi gerçekleştirilir (2).

b) Koyun ve keçilerde L_3 veya L_4 için damla enfeksiyon oluşturulması: toplam 21 hayvan (11 tedavi, 10 kontrol) kullanılır. Hayvanlar Tablo 5'te gösterildiği gibi önce enfekte edilirler, daha sonra tedavi grubunda olanlara ilaç uygulanır ve bütün gruplara nekropsi yapılır. Sığırlarda da aynı şekilde enfeksiyon oluşturmak mümkündür (2,7,10,11).

C.3. Klinik denemeler

1. *Amaç:* Bir antelmintik ürünün pros-

pektüsünde tavsiye edilen dozlarda kullanıldığında etkinliğinin saha şartlarında değerlendirilmesi ve ürünün güvenlik sınırı hakkında daha fazla bilgi edinmektir. Ayrıca klinik denemeler hayvanların birtakım verimlilikleri üzerine ilacın etkisinin araştırılması için de yapılabilir (4,6,10,11).

2. *Doz ayarlaması:* Doz teyit denemeleri ile etkinliği teyit edilmiş olan dozda ilaç uygulanır. Sürü tedavisi yapılması durumunda, nispi olarak homojen bir grup içerisinde en ağır hayvan

Tablo 4. Sığırlarda L_4 ve genç parazitler için trickle enfeksiyon oluşturulması, tedavi ve nekropsi programı (31).

Table 4. The trickle infection with L_4 and immature adults in cattle and the treatment-necropsy programs.

a) Enfeksiyon oluşturulması

Parazit Türü	İnokulum sayısı	L_3 sayısı		İnokulasyon Günleri
		Günlük	Toplam	
H.placei	12	400	5000	-24 ile -13
O.ostertagi	10	400	4000	-23 ile -14
T.axei	10	500	5000	-23 ile -14
Cooperia sp.	10	600	6000	-20 ile -11
N.helvetianus	10	500	5000	-25 ile -16
Oesophagostomum radiatum	10	250	2500	-20 ile -11
B.phlebotomum	1	3000	3000	-17

b) Tedavi ve nekropsi programı

Gün	Yapılacak olan işlem
- 10	Kont. gruptan 1 hayvan nekropsi (larva canlılık mua.), 11 hayvan tedavi edilir.
0	Kont. gruptan 1 hayvan nekropsi (larva canlılık mua.), 11 hayvan tedavi edilir.
+ 21 + 22	Her gün 3 kontrol, 7 tedavi grubundan hayvan nekropsi yapılır.
+ 23	Kontrol grubundan 3, tedavi grubundan 8 hayvan nekropsi yapılır.

Tablo 5.Koyun ve keçilerde L₃ veya L₄ için trickle enfeksiyon oluşturulması, tedavi ve nekropsi programı (31).

Table 5. The trickle infection with L₃ and L₄ in sheep and goats and the treatment-necropsy programs.

a) Enfeksiyon programı

Parazit Türü	L ₃ için günlük inokulum	inokulum günleri	L ₄ için günlük inokulum	İnokulum günleri
Chabertia ovina	100	-8 ile -1	50	-25 ile -9
B.trigonocephalum	400	-6	400	-15
G.pachyscelis	200	-6	400	-15
Oesophagostomum columbianum	150	-6 ile -1	50	-21 ile -7
N. spathiger	1000	-3 ile -1	350	-12 ile -4
H. contortus	1500	-2 ile -1	350	-11 ile -3
T. colubriformis	1000	-3 ile -1	450	-10 ile -4
Teladorsagia circumcincta	1000	-3 ile -1	500	-9 ile -4
S. papillosus	3000	-2	3000	-5

b) Tedavi ve nekropsi programı

Gün	L3 için yapılacak işlem	Gün	L3 için yapılacak işlem
0	11 dana tedavi edilir.	0	11 dana tedavi edilir.
0	1 kontrol nekropsi (larval canlılık muayenesi için)	0	1 kontrol nekropsi (larval canlılık muayenesi için)
+28	11 ted. ve 9 kont. nekropsi	+28	11 ted. ve 9 kont. nekropsi

baz alınmalıdır. En az iki bölgede, 100'er hayvanda yapılmalıdır. Bölge sayısı artırılması durumunda hayvan sayısı azaltılabilmektedir. Hayvanların en az % 25'i kontrol grubu olarak ayrılmalı, eğer gerekliyse daha sonra bunlardan tedavi edilmelidir (2,7,11,21,25).

3. *Hayvan seçimi ve enfekte edilmeleri:* Mümkün olduğu kadar değişik yaş, cinsiyet ve ırk üzerinde deneme yapılmalıdır. Değişik sığır ırkları (etçi, sütçü,etçi-sütçü), değişik süt ve yapağı koyun ırklarında yapılmalıdır. Hayvanlar mümkün olduğu kadar aynı derecede ve doğal olarak enfeksiyonu almış olmalıdırlar (2,10).

4. *Etkinliğin değerlendirilmesi:* Dışkıda yumurta sayımı veya koprokültür sonucunda yapılacak olan larva ayrımı ve sayımı ile yapılır. Dışkı yoklamasının ikisi tedavi öncesinde, üçüde tedaviden sonraki 7. 14 ve 21. günlerde olmak üzere toplam beş defa yapılarak sonuçlar aşağıdaki formülle değerlendirilmelidir (3,6,-7,24).

$$\% \text{ Etkinlik} = \frac{\text{Kont.grubu ort. yumurta sayısı} - \text{Ted. grubu ort. yumurta sayısı}}{\text{Kont. grup ort. yum sayısı}} \times 100$$

Dışkı yoklamasından daha iyi sonuçlar veren ve daha güvenilir olan yöntem larva sayımıdır. Ancak, sürü sağaltımında larva kültürü hazırlanırken her gruptan rastgele seçilmiş olan, eşit sayıda hayvandan hazırlanmasına dikkat edilmelidir. Örneğin her gruptan 10 hayvan seçilebilir (15,16,24,27,29,30).

AKCIĞER KILKURLARI İLE YAPILAN DENEMELER

1. *Enfeksiyonun oluşturulması:* Dictyocaulus türleri ile suni olarak enfeksiyon oluşturulabilirken, diğer akciğer kılkırtları ile deneme yapmak için mutlaka doğal enfekte hayvanlara ihtiyaç vardır. Çünkü bu nematodlarda gelişme direkt değildir. (1-3,7,12).

Dictyocaulus türleri ile suni olarak en

enfeksiyon oluşturmak için her hayvana 1500-3000 veya hayvanın her kilosu için 25 L₃ verilmelidir. Enfeksiyon tek tür ile oluşturulabileceği gibi gastrointestinal nematodlar ile birlikte de oluşturulabilir (2).

Sığırlarda *Dictyocaulus viviparus* larvalarının 3. ve 4. gömlek değişikliği enfeksiyonun 3. ve 5-6. günlerinde olup, prepatent süre 21-24 gündür. Koyun ve keçilerde *Dictyocaulus filaria* larvalarının 3. ve 4. gömlek değişikliği ise enfeksiyonun 2. ve 6-8. günlerinde olup, maksimum prepatent süre 28-30 gündür. L₃ ve L₄'e karşı yapılacak olan etkinlik denemelerinde bu sürelerin iyi bilinmesi gerkenlidir (1-3,26).

Dictyocaulus türleri ve gastrointestinal nematodlar ile aynı anda damla enfeksiyon oluşturulabilir. Bu enfeksiyon şeklinde L₃ ve L₄'e karşı etkinliğin araştırılması için tedaviden önceki 6. ve 1. günler arasında toplam 5 gün boyunca buzağılara günde 500 *D. viviparus* enfektif larvası (L₃), koyunlara tedaviden önceki 8. ve 1. günler arasında toplam 8 gün boyunca günde 200 *D. filaria* enfektif larvası inokule edilmelidir. Bu inokulum gastrointestinal nematod larvalarını da içerdiği için multispesifikdir (1-3).

2. *Tedavi programı*: Suni oluşturulan enfeksiyonlarda, *Dictyocaulus* türlerinin L₃, L₄ ve olgunlarına karşı bir ürünün etkinliğini araştırmak için tedavi, sırasıyla enfeksiyondan sonraki 2, 3-5 ve 24. günlerde yapılmalıdır. Çünkü 2. günde 3. gömlek, 3-5. günlerde 4. gömlek değişimi olur ve parazit 24. günde olgunlaşarak yumurta çıkarmaya başlar (2,3,6,10,20,31).

3. *Nekropsi programı ve akciğerin muayenesi*: Olgun parazitlere karşı etkinliğin değerlendirildiği denemelerde tedaviden sonraki 4-7. günlerde, L₃ ve L₄'e karşı yapılan denemelerde ise larvaların olgunlaşma süreleri sonunda nekropsi yapılmalıdır (3,11,25).

4. *Etkinliğin değerlendirilme kriterleri*: Doz belirleme ve doz teyit denemelerinde bir ürünün *Dictyocaulus* türlerine karşı etkinliği, kontrol ve tedavi gruplarındaki parazit yükü arasında görülen farkın istatistiksel analizi ile tespit edilir. Klinik denemelerde ise etkinlik, tedaviden sonraki 4-7. günlerden başlayan ve ard arda 3 gün tekrar edilen L₁ sayısındaki değişiklik ile tespit

edilir (2,3,20,31,32).

Bazen tedavi, yumurta üretiminde geçici bir depresyon meydana getirebilir. Bunu anlamak için tedaviden sonraki 2 ve 4. haftalarda dışkı muayeneleri yapılmalıdır (2,20,27,28,31,32).

SONUÇ

Ülkemizde de birçok araştırmacı, antelmintik ürünlerin ruminantlarda bulunan çeşitli helmint türleri üzerindeki etkinliğini araştırmaktadır. Ayrıca bu ürünlerin hayvanların birtakım verimlilikleri üzerine olan etkisini ve toksik dozunu da tespit etmek için denemeler yapılmaktadır.

Bu makale, ülkemizde yapılacak denemelerin orijinalliği, standardizasyonu ve Dünya Parazitoloji Birliği'nin aradığı diğer kriterlere uygun olarak düzenlenmesi hususunda kılavuz bir kaynak olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Coles G C, Bauer C, Borgsteede F H M, Geerts S, Klei T R, Taylor M A, Waller P: World association for the advancement of veterinary parasitology methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol*, 44:35-44, 1992.
2. Wood I B, Amaral N K, Bairden K, Duncan J L, Kasai T, Malone J B, Yr Pankavich J A, Reinecke R K, Slocombe O, Taylor S M, Vercruyse J: World association for the advancement of veterinary parasitology second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants. *Vet Parasit*, 58: 181-213, 1995.
3. Eysker M, Boersema J H, Cornelissen J B W J, Kloosterman A, Kooyman F N J: Residual effect of injectable moxidectin against lungworm and gastrointestinal nematodes in calves exposed to high pasture infectivity levels in the netherlands. *Vet Parasitol*, 61: 61-71, 1996.
4. Fisher M A, Jacobs D E, Jones P A: Field evaluation of an albendazole intraruminal capsule against benzimidazole-resistant. *Vet Rec*, 130: 351-352, 1992.
5. Craig T M, Hatfield T A, Pankavich J A, Wang G T: Efficacy of moxidectin against an ivermectin-resistant strain of *Haemonchus contortus* in sheep. *Vet Parasitol*, 41: 329-333, 1992.
6. Eddi C, Bianchin I, Honer M R, Muniz R A, Caracostantogolo J, do Nascimento Y A: Efficacy of doramectin against field nematode infections of cattle in Latin America. *Vet Parasitol*, 49: 39-45, 1993.
7. Goudie A C, Evans N A, Gratton K A F, Bishop B F, Gibson S P, Holdom K S, Kaye B, Wicks S R, Lewis D, Weatherley A J, Bruce C I, Herbert A, Seymour D J: Doramectin-a potent novel endectocide. *Vet Parasitol*, 49: 5-15, 1993.
8. Lacey E, Snowdon K L: A routine diagnostic assay for the detection of benzimidazole resistance in parasitic ne-

- matodes using tritiated benzimidazole carbomates. *Vet Parasitol*, 27: 309-324, 1988.
9. Tınar R: Kuzularda yapay olarak oluşturulan kist hydatik hastalığının bazı yeni antelmintiklerle sağılması üzerine araştırmalar. *Türk Parazit Derg*, 1-2: 150-151, 1980.
10. Jones R M, Logan N B, Weatherley A J, Little A S, Smothers C D: Activity of doramectin against nematode endoparasites of cattle. *Vet Parasitol*, 49: 27-37, 1993.
11. Lammler G, Salai B N, Zahner H: Laboratory and field evaluation of parbendazole: A New Anthelmintic for Sheep. *Br Vet J*, 125: 205-211, 1996.
12. Aumont G, Frauli D, Simon R, Pouillot R, Diaw S, Mandonnet N: Comparison of methods for counting third stage larvae gastrointestinal nematodes of small ruminants in tropical pastures. *Vet Parasitol*, 62: 307-315, 1996.
13. Grimshaw W T R, Hong C, Hunt K R: Potential for misinterpretation of the faecal egg count reduction test for levamisole resistance in gastrointestinal nematodes of sheep. *Vet Parasitol*, 62: 267-273, 1996.
14. Tınar R: Fasciola hepatica ile enfekte koyunlarda günün değişik saatlerinde dışkıyla çıkan yumurtaların sayısındaki değişiklikler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 25: 372-378, 1978.
15. Tiğin Y, Toparlak M, Coşkun Ş Z: Avermectin'ler ve doğal enfekte danaların mide-bağırsak nematodlarına karşı ivermectin'in etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 1: 119-125, 1987.
16. Zeybek H: Koyunların mide-barsak kılkuçlarına karşı banminth'in etkisi. *Türk Vet-Hek Dern Derg*, 42: 36-39, 1972.
17. Bell S L, Perry K W, Rowlinson P: Control of gastrointestinal parasitism in calves with albendazole delivered via an intraruminal controlled-release device. *Vet Parasitol*, 62: 275-290, 1996.
18. Jakson F, Jakson E, Coop R L: Evidence of multiple anthelmintic resistance in a strain of Teladorsagia circumcincta (Ostertagia circumcincta) isolated from goats in Scotland. *Res Vet Sci*, 53: 371-374, 1992.
19. Weatherley A J, Hong C, Harris T J, Smith D G, Hammet N C: Persistent efficacy of doramectin against experimental nematode infections in calves. *Vet Parasitol*, 49: 45-51, 1993.
20. Güralp N, Kavanaugh J, Baker D: Koyun ve keçi metastrophylose'unun emetine'le tedavisinde yeni araştırmalar. *Türk Vet Hek Dern Derg*, 27: 3779-3789, 1957.
21. Güralp N, Dinçer Ş: Koyunlardaki mide-bağırsak nematodlarının tedavisinde maretin. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 13: 1-14, 1966.
22. Eddi C, Caracostantogola J, Pana M, Schapiro J, Marangunich L, Waller P J, Hansen J W: The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in southern Latin America: Argentina. *Vet Parasitol*, 62: 187-197, 1996.
23. Vural A, Whitten L K: Koyunlarda Dicrocoelium enfestasyonuna karşı bir antelmintik: Thiabendazole üzerinde yapılan denemeler. *Pendik Vet Kont Arş Enst Derg*, 1: 78-87, 1967.
24. Taşan E, Özer E, Altaş M G, Şaki C E: Febantel (rintal)in doğal enfekte kuzu ve koyunlarda mide-bağırsak nematodlarına etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 41: 527-531, 1994.
25. Wicks S R, Kaye B, Weatherley A J, Lewis D, Davison E, Gibson S P, Smith D G: Effect of formulation on the pharmacokinetics and efficacy of doramectin. *Vet Parasitol*, 49: 17-26, 1996.
26. Vercruyse J, Dorny P, Hong C, Harris T J, Hammet N C, Smith D G, Weatherley A J: Efficacy of doramectin in the prevention of gastrointestinal nematode infections in grazing cattle. *Vet Parasitol*, 49: 51-59, 1993.
27. Vural A, Whitten L K, Eliazian M, Onar E: Koyunlar için antelmintik olarak tetramisole. *Pendik Vet Kont Arş Enst Derg*, 1: 88-93, 1967.
28. Güralp N: Vermolin'in antelmintik etkisine dair yaptığımız deneyler ve aldığımız sonuçlar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 9: 39-47, 1962.
29. Özkoç Ü, Onar E: İvermectin'in topical formülasyonunun sığırlarda endo ve ektoparazitlere karşı etkisi hakkında denemeler. *Türk Vet Hek I. Bil Kong*, 1987.
30. Tınar R: Febandazol'un koyunlarda Strongyloides papillosus ve Trichostrongyloidea spp'ye etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 3-4: 317-323, 1982.
31. Kurtpınar H, Kalkan A: Franocide ile koyun ve tiftik keçilerinin akciğer kılkuçlarına karşı yapılan tedavi deneyleri. *Türk Vet Hek Dern Derg*, 30: 770-777, 1960.
32. Mimioğlu M, Güralp N, Göksu K: Koyun ve keçi metastrophylose'unun tedavisinde cyanacethydraside. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 6: 250-255, 1959.