

Mezbahada Kesime Sevk Edilen İkteruslu Sığırlarda Leptospirozun Varlığı ve Patolojik Bulguların Değerlendirilmesi

Fatih TÜRKER^{1a} Mehmet TUZCU^{2b*}

¹Türker Veteriner Kliniği Şarkikaraağaç Isparta, TÜRKİYE

²Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Konya, TÜRKİYE

^a<https://orcid.org/0000-0001-6889-925X>, ^b<https://orcid.org/0000-0003-3118-1054>

*Sorumlu yazar: mtuzcu@selcuk.edu.tr

ÖZET

Leptospiroz, hayvan yetiştiriciliği açısından önemli zoonoz karakterli, abort, kısırılık ve süt verimi kayıplarına neden olan, bakteriyel bir enfeksiyondur. Leptospiroz akut septisemik veya kronik nefritik formlarda seyrederek. Leptospirozlu hayvanlarda makroskopik olarak ikterusa bağlı organlar sarı renge boyanır. Karaciğer anemik, yumuşak ve büyüktür. Serozalarda kanamalar vardır. Böbrekler hafif şişkin ve açık kahve renkte olup kesit yüzlerinde siyahımtırak-kahve renkte küçük odakların bulunduğu gözlenir. Mikroskopik olarak, karaciğer parankiminde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ile portal alanda yangısal hücre infiltrasyonları görülür. Remark hücre dizilerinde bozulmalar ve intrahepatik kolestaz gözlenir. Böbrekte tubul epitellerinde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler, tubul lümenlerinde hiyalin silindirler gözlenir. Ayrıca böbrek intersitisyumunda yoğun yangısal hücre infiltrasyonları görülür. Bu çalışmada Isparta ili Şarkikaraağaç ilçesi belediye mezbahasında 2020 yılında kesilen ve ikterus görülen 35 sığırdan, patolojik ikterus gözlenen 11'i leptospirozis yönünden incelenmiştir. Bu olgulardan alınan karaciğer ve böbrek örnekleri bilinen laboratuvar yöntemleri ile işlenerek immunperoksidaz ve levaditi boyama yöntemleri ile boyandı. Elde edilen sonuçların histopatolojik bulgular ile karşılaştırması yapıldı. Leptospirozisli ineklerde iç organların, seroza ve mukozalar ile karkasın sarı renge boyanmış olduğu görüldü. Karaciğerlerin sarımsı renkli, yumuşak kıvamlı ve büyümüş olduğu belirlendi. Böbreklerin hafif şişkin ve açık kahverenginde olduğu gözlemlendi. Levaditi boyama metoduyla 7 olguda pozitiflik tespit edilirken, immunhistokimyasal boyama yöntemiyle 11 olguda pozitiflik tespit edildi. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar leptospirozun spesifik ve erken tanısında immunhistokimyasal tanı uygulamasının Levaditi metoduna göre etiyolojik açıdan uyumlu ve daha güvenilir sonuçlar verdiğini ortaya koymaktadır.

MAKALE BİLGİSİ

Arastırma Makalesi

Geliş : 01.09.2021

Kabul: 15.10.2021

Anahtar kelimeler: İkterus, İmmunhistokimya, Leptospiroz, Levaditi, Sığır

The Presence of Leptospirosis and Evaluation of Pathological Findings in The Cattle With Icterus Referred to Slaughterhouse

ABSTRACT

Leptospirosis is a bacterial infection with an important zoonotic character in terms of animal husbandry, causing abortion, infertility, and milk yield losses. Leptospirosis progresses in acute septicemic or chronic nephritic forms. In leptospirosis, the organs are coloured yellow due to icterus. The liver is anaemic, soft, and large. There is bleeding in the serosa. It is observed that the kidneys are slightly swollen and light brown, and there are blackish-brown small foci on the cross-sectional faces of the kidneys. There is intrahepatic cholestasis. In this study, 11 cattle with pathological icterus were examined in terms of leptospirosis among 35 cattle with icterus slaughtered in 2020 in the municipal slaughterhouse of Şarkikaraağaç district of Isparta province. Liver and kidney samples taken from these cases were processed with known laboratory methods and stained with immunoperoxidase and levadite staining methods. The results obtained were compared with the histopathological findings. It was seen that internal organs, serosa and mucous membranes and carcass were stained yellow in cattle with leptospirosis. It was determined that the livers were anemic, soft and enlarged. It was seen that kidneys were to be slightly swollen and light brown. While positivity was detected in 7 cases with the Levadite staining method, 11 cases with immunohistochemical diagnosis method. The results obtained in this study revealed that the application of immunohistochemical diagnosis in the specific and early diagnosis of leptospirosis gave etiologically compatible and more reliable results compared to my Levaditi method.

ARTICLE INFO

Research article

Received: 01.09.2021

Accepted: 15.10.2021

Keywords:

Icterus, Immunohistochemistry, Leptospirosis, Levaditi, Cattle

GİRİŞ

Eritrositlerin hemolizi ya da hepatositlerin dejenerasyonu ve nekrozu veya safra akışının engellenmesi sonucu safra renkli maddelerin kanda birikerek dokuları sarıya boyaması ikterus olarak tanımlanmaktadır (Erer ve ark. 2009).

Türkiyede 1949 yılında ilk sığır leptospiroz vakası Akçay ve Pamukçu (1950) tarafından bildirilmiştir. Atatürk Orman Çiftliğinde ateş, ikterus, anemi ve hemoglobüri semptomları göstererek ölen, 1 yaş ve 1 yaş altı 3 dananın böbreklerinden Levaditi yöntemi ile etkeni tespit etmişlerdir.

Leptospirozis etkeni *Leptospiraceae* familyasındaki leptospira türleridir (OIE Manual 2018). Leptospiralar, 0.1-0.3 µm çapında ve 6-20 µm uzunluğunda ince sarmal biçimli, Gram negatif bakterilerdir. Anilin boyalarla iyi boyanmayan Leptospiralar, Giemsa ve gümüşleme (Levaditi, Fontana) boyama yöntemleri ile boyanarak görünürler (Quinn ve ark. 1993; Jones ve ark. 1997; Lucheis ve Ferreira 2011). Leptospiralar, bakteriler için olan genel besiyerlerinde üremezler. Ayrıca kan, serum, B1 ve B12 vitaminleri, demir ve yağ asitlerine de gereksinimleri vardır (Kaufmann ve Weyant 1995; Levett 2001; Lucheis ve Ferreira 2011).

Leptospiroz, tarla fareleri başta olmak üzere kemiricilerin doğal enfeksiyonudur. Kemiriciler dışında başka yabani ve evcil hayvanlar da etkeni böbrek tübüllerinde taşıyarak idrarla dış ortama saçarlar. Böylece su, besin maddeleri ve toprak kontamine olur. Hastalığa en fazla rastlanılan mevsimler ilkbahar, sonbahar ve erken kışır. Özellikle tropikal bölgelerde yağmurlu sezonlar hastalığın en fazla görüldüğü zamanlardır (Bolin 2005; Lucheis ve Ferreira 2011).

İnkübasyon periyodu 3-20 gün arasında değişen leptospira etkenleri vücuda mukoza, deri, konjunktiva ve ürogenital sistemde açılan port antrelerden girer (Lilenbaum ve ark. 2008).

Sığırlarda en sık görülen serovarlar *L. grippotyphosa*, *L. pomona*, *L. hardjo*, *L. hebdomanis* ve *L. icterohaemorrhagiae*'dir. Tüm dünyadaki sığırlarda en fazla hastalık oluşturan serovar *L. hardjo*'dur (Jones ve ark. 1997; Levett 2001).

Hastalık sığırlarda ikter, anemi, hemoglobüri, septisemi, organ ve dokularda peteşiyel kanamalar, abortus, mastitis ve ölüme karakterizedir. Hastalık görülen sığırlarda gebeliğin 6. ayından itibaren abortlar görülür. Perakut formda ilk klinik belirtiler görüldükten 15-25 saat sonra ölüm şekillenir. Hastalığın bu formu genellikle 1-2 aylık buzağılarda görülür. Enfeksiyondan kurtulan hayvanların iyileşmesi uzun sürer (Arda ve ark. 1997; Jones ve ark. 1997; Hazıroğlu ve Milli 2001; Levett 2001).

Milk Drop Sendromu olarak adlandırılan akut durumda ise süt, kolostruma benzer yapıda, kalın pıhtılı, sarı lekeli ve yüksek somatik hücreye sahiptir. Meme çok yumuşak bir yapıdadır. Bazı hayvanlarda etken eklemere yerleştiği için topallama da vardır (Arda ve ark. 1997; Bolin 2005; Scott 2018).

Kronik leptospiroz genellikle erişkin hayvanlarda serovar hardjo ile şekillenir. Dişi genital yolunun kronik enfeksiyonunda, serovar hardjo ile enfekte olmuş sığırlarda kısırılık vardır. Gebe ineklerde ölü doğum, zayıf ya da prematüre doğum ve abortlara neden olur. Kısırılık, aşılanmış veya tedavi edilmiş sürülerde görülebilir. Bu form aylarca sürebilir (Jones ve ark. 1997; Hazıroğlu ve Milli 2001; Bolin 2005).

Nekropside yaygın peteşiyel kanamalar görülür. İkterusa bağlı olarak organlar sarı renge boyanır. Karaciğer anemik, yumuşak ve büyüktür. Serozalarda kanamalar vardır. Safra kesesinin dolgun, içeriği koyu ve kaba granüllü olduğu görülmektedir. Böbreklerinde hafif şişkin ve açık kahverenginde olduğu, ayrıca böbreklerin üst ve kesit yüzlerinde serpilmiş olarak siyahımtırak-kahverenginde küçük odakların da bulunduğu gözlenir (Thompson ve Manktelow 1989). Histopatolojik değişiklikler en fazla karaciğer, böbrekler, kalp ve akciğerlerde görülür. İntrahepatik kolestaz vardır. Kupffer hücrelerinin hipertrofisi ve hiperplazisi belirgindir (Levett 2001). Böbrekler şişkindir. Böbreklerde nötrofil ve monositlerden oluşan yoğun bir hücre infiltrasyonunun eşlik ettiği interstisyel nefritis tablosu en belirgin bulgudur. Kalp solgundur ve peteşiyel kanamalar gözlenir. Kalpteki patolojik bulgular, belirgin olarak lenfosit ve plazma hücrelerinin infiltrasyonu ile oluşan interstisyel miyokarditis, epikardiyumda mononükleer hücre infiltrasyonu, peteşiyel kanamalar, perikardiyumda sıvı birikimi ve koroner arteritistir. Akciğerlerde nötrofil lökositlerin varlığı ve kanamalar en dikkat çekici bulgulardır. Alveollerde monosit ve nötrofillerinden oluşan yangısal infiltrasyon görülür. Ayrıca hiyalin membran oluşumu görülebilir. Dalak koyu renkli ve şişkindir. Lenf nodülleri ödemli ve kanamalıdır. Abort fötüsün plesantası kalın ve ödemlidir. İskelet kaslarında özellikle bacak kaslarında, histiyositlerin, nötrofillerin ve plazma hücrelerinin infiltrasyonu ve kas liflerinin fokal nekrozu gözlenir (Levett 2001).

Hastalığın teşhisi etken izolasyonu, serolojik ve histopatolojik muayenelerle yapılır. Ancak son yıllarda immunoperoxidaz tekniği ile formolde tespit edilip parafinde bloklanan doku kesitlerinde bakteriyel antijenin saptanmasıyla tanıya gidilmektedir (Sağlam ve ark. 2008). Leptospirozun laboratuvar tanısı, klinik örneklerin doğrudan incelenmesine, etkenin izole edilmesine, serolojik testler yoluyla anti-leptospiral antikorların tespit edilmesine veya etken DNA'sının moleküler yöntemlerle tespit edilmesine dayanır (Flannery ve ark. 2001; Hamond ve ark. 2012; Picaudeau 2013).

Bu çalışmada Isparta ili Şarkikaraağaç ilçesi belediye mezbahasında kesime sevk edilen ve ikterus gözlenen sığırlarda leptospiruzun varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla kesimden sonra karkas ve iç organlarda ikterus saptanan sığırların karaciğer ve böbreklerinden örnekler alınarak, makroskopik ve mikroskopik incelemeleri yapılmıştır. Yine bu dokulardan immuhistokimyasal ve Levaditi yöntemleri ile leptospira etkenlerinin varlığı belirlenerek histopatolojik değişiklikler ile kıyaslamaları yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Isparta ili Şarkikaraağaç ilçe belediye mezbahasında 2020 yılında kesilen ve ikterus gözlenen 35 sığırın bekletme ve eter alkol deneyi (Yıldırım 1996) ile ayrılan 20 adet patolojik ikteruslu sığırdan immunhistokimyasal yöntemle leptospirozis teşhisi konulan 11 adet sığıra ait karaciğer ve böbrekler çalışmanın materyalini oluşturdu.

Çalışma kapsamında değerlendirilecek olgulara ait karaciğer ve böbrek dokularından hazırlanan parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında alınan kesitler Hematoksilen Eozin ile boyandı. Olgulara ait karaciğer ve böbreklerden alınan dokular usulüne uygun olarak Levaditi (gümüşleme) boyama yöntemi ile boyandı (Luna 1968).

Olgulara ait karaciğer ve böbrek dokularında leptospira antijenlerini belirlemek amacıyla dokulardan lizinli lama alınan kesitler 1 gece boyunca 37°C ya da 60°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyonu tamamlanan kesitler, 3 kez 5'er dakika ksilol serilerinden geçirilerek, iki kez her birinde 10 dakika tutmak kaydı ile alkol serilerinden geçirildi. %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika tutulan preparatlar, 20 ml sitrat buffer 180 ml distile su karışımı içerisinde mikrodalga fırında 80 watta kaynatıldı, sonrasında 40 watta düşürüp 15 dakika mikrodalga fırında bekletildi. Yirmi dakika dış ortamda sogutulan preparatlar başka bir kaba alınarak PBS ile 10 dakika süre ile yıkandı. Altı ve etrafı iyice kurulandıktan sonra Blocking solution damlatılıp 10 dakika bekledi, Fazla kısmı döküldükten sonra üzerine tavşan anti Leptospira biflexa (hiperimmun serum) dökülerek 1 saat karanlık ortamda bekletildi. 2 kez 5'er dakika PBS ile çalkalanarak, etrafı kurulanıp Broad Spectrum Second Antibody damlatıldı, 10 dakika karanlık ortamda bekletildi. On dakika PBS ile yıkama kurulumu uygulaması yapılarak ve HRP Streptavidin koyulup karanlık ortamda 10 dakika tutuldu. Tekrar 10 dakika PBS ile yıkanarak ve 1 ml DAB substrate, 1 damla DAB chromogen karıştırılarak kullanma solüsyonu hazırlanıp lamaların üzerine güneş almayan karanlık bir ortamda döküldü. Su ile yıkandı ve Mayer Hematoksilende 3-5 dakika bekletilerek dokular su ile mavileşinceye kadar yıkandı. Alkol-xylol serilerinden geçirilip entellan ile lamel kapatıldı.

Mikroskopik incelemeler sonucunda gerekli görülen kesitlerden mikroskopik fotoğraflar çekildi

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada 2020 yılı içerisinde kesilen 1109 adet sığır incelenmiştir. Mezbahada bir yıllık periyotta kesilen sığırların tamamı göz önünde bulundurulduğunda sarılık görülme oranının %3,1 (35 adet), patolojik sarılık oranı %1,8 (20 adet), leptospirozis belirlenme oranının %1 (11 adet), sarılıklı sığırlarda leptospirozis belirlenme oranının %31,43 (11/35) olduğu patolojik sarılık olarak ayrılan sığırlar içerisinde ise leptospirozisin %55 (11/20) oranında görüldüğü belirlendi. Çalışmada 15 adet sığırdaki fizyolojik sarılık 9 adet sığırdaki ise leptospira harici patolojik sarılık belirlenmiştir (Çizelge 1)

Çizelge 1. Mezbahada kesilen hayvanlar ve sarılık oranları

Sarılık görülen (35)		Sarılık görülmeyen	Toplam
Fizyolojik	Patolojik (20)		
	Leptospiroz	Diğer	
15	11	9	1074
			1109

Çalışmada leptospira pozitif olarak belirlenen sığırlarda özellikle peritonda olmak üzere serozalarda peteşiyel kanamalar görüldü. Leptospirozis belirlenen bütün olgularda perikart kesesinde sıvı birikimi ve perikartta peteşiyel kanamalar belirlendi. Bütün leptospirozisli sığırlarda iç organların, seroza ve mukozalar ile karkasın sarı renge boyanmış olduğu görüldü (Şekil 1). Karaciğerlerin sarımsı renkli, yumuşak kıvamlı ve büyümüş olduğu belirlendi (Şekil 2-A). Üç olguda safra kesesinin dolgun, içeriğinin koyu renkli ve granüler yapıda olduğu dikkat çekti (Şekil 2-A). Böbreklerin hafif şişkin ve açık kahve renginde olduğu (Şekil 2-B), ayrıca böbreklerin üst ve kesit yüzlerinde serpilmiş olarak siyahımtırak-kahve renkte küçük odakların da bulunduğu gözlemlendi. Dalaklar koyu renkli ve şişkin olarak belirlendi.

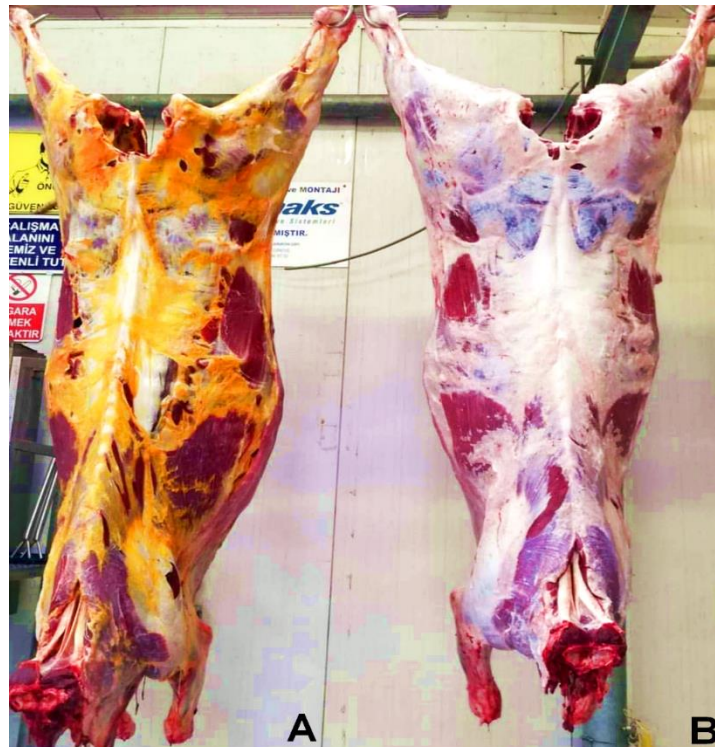
Çalışmada leptospirozis belirlenen sığırlarda gümüşleme ve immunhistokimya sonuçlarının karşılaştırılması Çizelge 2 de verilmiştir.

Çizelge 2. Çalışmada immunhistokimya ile leptospirozis belirlenen sarılıklı sığırlarda böbrek ve karaciğerde gümüşleme ve immunhistokimya pozitifliği.

Vaka No	İmmunohistokimya		Levaditi (Gümüşleme)	
	Böbrek	Karaciğer	Böbrek	Karaciğer
1	+	+	+	-
2	+	-	-	-
3	+	-	+	-
4	+	-	+	-
5	+	+	+	-
6	+	-	-	-
7	+	-	+	-
8	+	-	-	-
9	+	-	-	-
10	+	+	+	-
11	+	+	+	-
Toplam	11	4	7	0

Histopatolojik incelemelerde leptospirozlu hayvanlarda karaciğerde vena sentralislerin çevresinde rastgele dağılmış şekilde dejeneratif ve nekrotik hepatositler belirlendi (Şekil 3-A). Portal bölgelerde lenfosit, plazma hücresi ve makrofajlardan oluşan yangısal hücre infiltrasyonları belirlendi. Karaciğer kesitlerinde yoğun sarı-yeşil safra pigmenti birikimlerine rastlandı (Şekil 3-A). Böbreklerde proksimal ve distal tubul epitellerinde yaygın dejenerasyon ve nekrozlar görüldü (Şekil 3-B). Tubul lümenlerinde dökülmüş epitel hücreleri ve hiyalin silindirleri (Şekil 3-B) ile intersitisyel bölgelerde fokal mononükleer hücre infiltrasyonları tespit edildi.

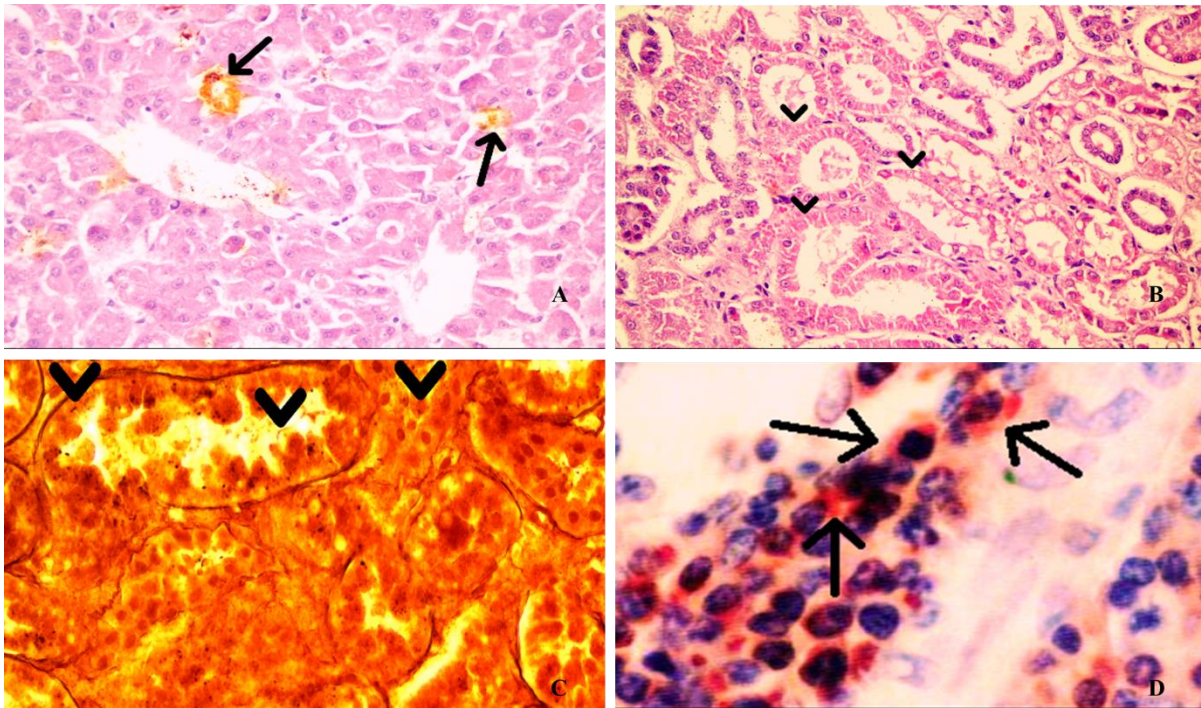
Levaditi boyama metoduyla 7 sığırdada sadece böbrek dokusunda pozitiflik tespit edildi. Boyanmalar böbrek tubul epitellerinde ve lümenlerinde sarı zeminde siyah renkte boyanmış etkenler olarak görüldü (Şekil 3-C). Çalışmada IHC yöntemiyle 11 örnekte pozitif boyanma tespit edildi. Boyanmalar böbrek tubul epitellerinde intrasitoplazmik kahverengi granüller halinde ve bazen de bazal membrana yakın kısımlarda hücre zarına yapışık vaziyette görüldü (Şekil 3-D). Pozitif boyanan 11 numunenin 4 tanesinde böbrek ve karaciğerde pozitiflik saptandı. Olguların tümünde böbreklerde pozitiflik vardı.



Şekil 1. (A) İkteruslu karkas, Leptospiroz, (B) Normal karkas.



Şekil 2. (A) Sarımsı renkli karaciğer ve büyümüş safra kesesi, (B) İkteruslu böbrek, Leptospirozis.



Şekil 3. A. Hepatositlerde nekroz ve dejenerasyon, İntrahepatik kolestaz (oklar), karaciğer, leptospirozis, H.E, X200. B. Tubul lümenlerinde hiyalin silindirleri, Tubul epitellerinde dejenerasyon (ok başı), C. Tubulus epitellerinde bakteriler (ok başı), böbrek, Leptospirozis, Levaditi boyama, X600. D. Anti-Leptospira rabbit antiserumu ile tubul epitellerinde pozitif boyanma (oklar), böbrek, IHC, X400.

Leptospiroz, hayvanlarda infertilite, ölü doğum, abort, ölüm ve süt veriminde düşüslere neden olduğu için hayvancılık ekonomisi açısından önemli bir hastalıktır. Çiftlik hayvanlarında leptospirozun teşhis edilmesi oldukça zordur. Teşhisteki başlıca güçlükler, konakçı ve bakteri arasındaki ilişkinin karmaşık yapısı ve enfeksiyonun değişim göstermesidir (Bolin 2005). Bu çalışmada mezbahada kesilen ve ikterus gözlenen sığırlardaki leptospirozis varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Miller ve ark. (1991) yılında Amerika Birleşik Devletlerinin 49 eyaleti ve Porto Rico'da yaptıkları çalışmada böbrek ve kan serumu örneklerini incelemişler ve çalışma sonucunda böbreklerin %1,7'sinde leptospiraları izole etmişlerdir. Serolojik olarak da %9 oranında pozitiflik saptamışlardır. Erzurum bölgesinde Özkan ve ark. (1993)'ın yaptıkları çalışmada leptospirozisin sığırlarda %16, koyunlarda % 0,04 oranında görüldüğü bildirilmiştir. Yapılan bu çalışma da mezbahada bir yıllık periyotta kesilen sığırların tamamı göz önünde bulundurulduğunda sarılık görülme oranının %3,1, leptospirozis belirlenme oranının %1, sarılıklı sığırlarda leptospirozis belirlenme oranının %31,43 olduğu patolojik sarılık olarak ayrılan sığırlar içerisinde ise leptospirozisin %55 oranında görüldüğü belirlendi. Diğer sarılık olgularının

ise kan protozoonlarına bağlı şekillenmiş olabileceği düşünüldü. Sonuçların Özkan ve ark. (1993) göre farklı olmasının sebebi materyal sayısı ve coğrafi konumla ilişkilendirilmiştir.

İkterusta vücut yağları ve seröz membranlar sarı renkte görünürler. Sarı renk oluşumuna gözde, tendolarda ve uzun kemiklerin kırıldak dokularında da rastlanır (Erer ve ark 2009). Fizyolojik sarılık ise, genelde merada otlayan hayvanlar ile fazla miktarda mısır kırması ve havuçla beslenen hayvanlarda oluşur. Bunun nedeni bu tip bitkilerde bulunan klorofil, lipokrom ve karatinoid benzeri maddelerdir. Fizyolojik sarılığa neden olan maddeler, safra pigmentlerinin aksine, oksijene fazla duyarlı oldukları için hava ile temas ettiklerinde belirli süre sonunda oluşan sarı renk azalır. Bu nedenle sarılık gösteren karkaslar serin bir yerde 24 saat bekletildiğinde, sarı renk azalır veya tamamen kaybolur ise fizyolojik, sarılık, kaybolmaz veya azalmaz ise patolojik sarılığa karar verilir (Yıldırım 1996). Patolojik sarılığı, fizyolojik sarılıktan ayırmak amacıyla laboratuvarında basit bir yöntem olan alkol ve eter deneyi yapılabilir. Bu amaçla sarılık semptomu gösteren karkastan alınan yağ dokusu, küçük parçalar haline getirildikten sonra birinde % 50'lik alkol, diğerinde eter bulunan deney tüplerine konduktan sonra iyice çalkalanır ve 1-2 saat süreyle bekletildikten sonra değerlendirilir. Şayet bu sürenin sonunda alkol sarıya boyanmış ise patolojik sarılık, eter sarıya boyanmış ise fizyolojik sarılığa karar verilir (Yıldırım 1996). Bu çalışmada da kesim sonrası sarılık belirlenen sığır karkasları 24 saat süreyle bekletilerek ve yağ dokularından alınan örnekler eter alkol deneyine tabi tutularak 15 tanesinin fizyolojik sarılık olduğu belirlenmiştir. Belirlenen bu oran toplam sarılık vakalarının % 42,85 'ini içermesi açısından önemlidir. Bu durum ilçede yetiştirilen hayvanların çoğunun merada beslenmesine yorumlanmıştır.

Çalışmada incelenen leptospirozisli ineklerde iç organların, seroza ve mukozaların ve karkasın sarı renge boyanmış olduğu ve karaciğerlerin büyük, solgun renkli ve anemik olduğu belirlendi. Yine incelenen olgularda böbreklerin hafif şişkin ve açık kahverenginde olduğu, böbreklerin üst ve kesit yüzlerinde serpilmiş olarak siyahımtırak-kahve renkte küçük odakların da bulunduğu gözlemlendi. Bu bulgular leptospirozisin patolojisinin raporlandığı çalışmalarla uyumludur (Thompson ve Manktelow 1989). Ayrıca, üç olguda belirlenen safra kesesinin dolgunluğu, koyu renkli içeriği ve içeriğin kaba granüllü oluşu literatür ile benzerdir (Thompson ve Manktelow 1989).

Histopatolojik incelemelerde Leptospirozlu hayvanlarda karaciğerde vena sentralislerin çevresinde daha fazla olmak üzere gelişigüzel dağılımlı dejeneratif ve nekrotik hepatositler görüldü. Nekrotik alanlarda ve portal bölgelerde lenfosit, plazma hücresi, makrofaj ile az miktarda nötrofil granülosit içeren yangısal hücre infiltrasyonları belirlendi. Böbreklerde proksimal ve distal tubul epitellerinde yaygın nekrozlar görüldü. Tubul lümenlerinde dökülmüş epitel hücreleri ve hiyalin silindirleri ile intersitisyel bölgelerde fokal mononükleer hücre infiltrasyonları tespit edildi. Bu bulgular benzer çalışmaların sonuçları ile uyumludur (Milli ve Hazıroğlu 1997; Ellis 1983; Scanziani 1991; Özdemir ve Erer 2018).

Sunulan çalışmada 2020 yılında Isparta ili Şarkikaraağaç ilçe mezbahasında kesilen sığırlarda patolojik sarılık belirlenen 20 adet sığıra ait dokular immunhistokimyasal ve Levaditi yöntemleriyle incelendi. Çalışma sonucunda pozitif bulunan örnekler HxE boyama metoduyla karşılaştırıldı. Anti-leptospira rabbit antiserumu kullanılarak yapılan IHC metodu ile 11 adede pozitiflik saptanırken, Levaditi boyama yöntemi ile 7 örneğe ait böbrekte leptospira etkenleri gözlemlendi. Sunulan çalışmada da Levaditi yöntemiyle sadece ikteruslu sığırların böbreklerinden etken tespiti yapılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar Hathaway ve ark. (1986) çalışması ile uyumludur.

Gümüşleme teknikleri ile etkenin iyi boyanabilmesi için dokunun tespit edilmeden önceki tazeliği önem arz etmektedir. Aksi durumlarda etkenin görünümünde değişimler olduğu belirtilmektedir (Falini ve Taylor 1983; Russell ve Faine 1984). Oluşan böyle güç durumlar karşısında immunperoksidaz metodu ile leptospiroz tanısını koymak daha kolay (Milli ve Hazıroğlu 1997; Ellis 1983; Scanziani ve ark 1991) olduğu, metodun hassasiyetinin %78 ve doğruluğunun %100 olduğu bildirilmiştir (Scanziani ve ark. 1991). Sağlam ve ark (2008) abort fütuslarda, Yener ve Keleş (2001) ise leptospira şüpheli sığırların dokularına yapılan Levaditi boyamalarında etkenleri tespit edemediklerini fakat immunperoksidaz boyamada leptospira antijenlerini tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da Levaditi boyama ile sadece 7 vakada pozitiflik varken IHC boyamada ise 11 vakada pozitiflik tespit edilmesi IHC yönteminin daha hassas ve güvenilir olduğunu ortaya koymuştur.

Yapılan çalışmalarda, anti-Leptospira rabbit antiserumu ile boyanma tarzının, dalga formunda ve kümeler şeklinde olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada belirlenen antijen kümelenmeleri şeklinde boyanmalar diğer çalışmalarla (Szeredi ve Haake 2006; Sağlam ve ark. 2008; Arslan 2019) uyumludur. Sunulan çalışmada IHC yöntemiyle yapılan boyamalarda leptospira antijenleri, böbrekte tubulus epitel hücreleri, karaciğerde hepatositlerin sitoplazmalarında tespit edildi

SONUÇ

Isparta ili Şarkikaraağaç ilçesi mezbahasında bir yıllık periyotta kesilen sığırlarda ikterus oranı %3,1, leptospirozis oranı ise %1 olarak belirlenmiştir. Ayrıca ikteruslu vakalarda Leptospirozis oranı %31,43 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar sığır leptospirozisinin teşhisinde *Leptospira* etkenlerinin izolasyon zorluğundan kaynaklanan durumlardan dolayı leptospirozun spesifik ve erken tanısında immunhistokimyasal tanı uygulamasının etiyolojik açıdan uyumlu ve güvenli sonuçlar verdiğini, ortaya koymaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu yazı ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKISI

Yazarlar makale üzerinde eşit katkı hakkına sahiptir.

TEŞEKKÜR

Aynı isimli Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiş ve bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından (Proje No:20202012) desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akçay S, Pamukçu A 1950. Leptospirosis in cattle in Turkey. *Türk Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi*, 20, 319-32.
- Arda M, Aydın N, Ilgaz A, Minbay A, Kahraman M, İzgür M, Leloğlu N, Akay Ö, Diker KS 1997. Spiroketler. In: Özel Mikrobiyoloji, Ed. Arda M, Medisan, Ankara, s.257-274.
- Arslan, Z 2019. Marmara Bölgesinde Ruminantlardaki Abort Olgularında Leptospirozisin Levaditi ve İmmunohistokimyasal Yöntemlerle Teşhisi ve Histopatolojik Bulgularla Karşılaştırılması. SÜ Sağ. Bil. Ens. Yüksek Lisans Tezi, Konya.
- Bolin CA 2005. Leptospirosis in cattle: Disease review and update. Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference, Orlando, Florida, 8-12.
- Ellis TM, Robetson GM, Hustas L, Kirby M 1983. Detection of leptospire In tissue using an immunoperoxidase staining procedure. *Aust. Vet J*, 12, 364-367. DOI:[10.1111/j.1751-0813.1983.tb02849.x](https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1983.tb02849.x)
- Erer H., Kiran MM., Çiftçi MK 2009. Veteriner Genel Patoloji, 3. Baskı. Bahçıvanlar Basım Sanayi A.Ş. Konya.
- Falini B, Taylor CR 1983. New developments in immunoperoxidase techniques and their application. *Arch Pathol Lab Med*, 107, 105-17.
- Flannery B, Costa D, Carvalho FP, Guerreiro H, Matsunaga J, Da Silva ED, Ferreira AG, Riley LW, Reis MG, Haake DA, Ko AI 2001. Evaluation of recombinant *Leptospira* antigen-based enzyme-linked immunosorbent assays for the serodiagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol*, 39, 9, 3303-10. DOI:[10.1128/JCM.39.9.3303-3310.2001](https://doi.org/10.1128/JCM.39.9.3303-3310.2001)
- Hamond C, Martins G, Diniz R, Penna B, Lilenbaum W 2012. Comparison of rapid-slide versus microscopic agglutination tests for equine leptospirosis. *Onl J Vet Res*, 16, 111-16.
- Hathaway S, Little T, Pritchard D 1986. Problems associated with the serological diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in bovine populations. *The Veterinary Record*, 119, 4, 84-6. DOI:[10.1136/vr.119.4.84](https://doi.org/10.1136/vr.119.4.84)
- Haziroğlu R, Milli ÜH 2001. Veteriner Patoloji, Cilt II, Ed:Haziroğlu R, Milli ÜH, Tamer Matbaacılık, Ankara, s.433-538.
- Jones TC, Hunt RD, King NW 1997. *Veterinary Pathology*. 6th Edition, Lippincott Wilkins, p:467-469.
- Kaufmann AF, Weyant RS 1995. Leptospiroseae. In: *Manual of Clinical Microbiology*. Eds: Murray, PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Yolken RH, 6th ed, ASM Press, Washington DC, p. 621-25.
- Levett PN 2001. Leptospirosis. *Clinic Microbiol Rev*. 14, 2, 296-326.
- Lilenbaum W, Vargas R, Brandão FZ, Cortez A, de Souza SO, Brandão PE, Richtzenhain LJ, Vasconcellos SA 2008. Detection of *Leptospira* spp. in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction. *Theriogenology*, 15,69, 837-42. DOI: [10.1016/j.theriogenology.2007.10.027](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.10.027)
- Lucheis SB, Ferreira RS 2011. Ovine Leptospirosis in Brazil. *J of Venom Anim and Tox Includ Trop Dis*. 17, 4, 394-405. DOI: [10.1590/S1678-91992011000400006](https://doi.org/10.1590/S1678-91992011000400006)
- Luna LG 1968. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd Edition, McGraw-Hill, New York. p.32-39.
- Miller DA, Wilson MA, Beran GW 1991. Survey to estimate prevalence of *Leptospira interrogans* infection in mature cattle in the United States. *Am J Vet Res*, 52, 1761-65.
- OIE, Terrestrial Manuel 2018. Leptospirosis. Erişim Tarihi, 2018, Erişim Adresi, http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.12_Lepto.pdf.
- Özdemir Ö, Erer H 2018. Dişi Genital Sistem, In: Veteriner Sistemik Patoloji, II. Cilt, Eds: Erer H, Çiftçi MK, 3.Baskı, Konya, Güler Ofset, p.199-242.

- Özkan Ö, Dörterler R, Hoştürk F 1993. Erzurum ili ve yöresindeki sığır ve koyunlarda sarılık ve kan işeme semptomlarıyla seyreden hastalıklarda Clostridium eodemtiens, Leptospira ve kan protozoonlarının insidansının belirlenmesi. Etlik Vet Mikrobiol Derg, 7, 4, 97-104.
- Picardeau M 2013. Diagnosis and Epidemiology of leptospirosis. Méd et Malad Infect, 43, 1, p. 1-9. DOI: [10.1016/j.medmal.2012.11.005](https://doi.org/10.1016/j.medmal.2012.11.005)
- Quinn PJ, Carter M, Markey BK, Garter GR, 1993. "Clinical Veterinary Microbiology". WoHe Plblishing, London, England.
- Russell CJ, Faine S 1984. Leptospira. In: Bergeys Manual of Systematic Bacteriology. Vol. I, Ed. Krierg, R., Hold, J.G., Williams & Wilkins, London, p.62-7. DOI: [10.1016/j.smallrumres.2007.04.006](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.04.006)
- Sağlam YS, Yener Z, Temur A, Yalcin E 2008. Immunohistochemical detection of leptospiral antigens in cases of naturally occurring abortions in sheep. Small Rum Res, 74, 1, 119-22.
- Scanziani E, Luini M, Fabbi M, Pizzocaro P 1991. Comparison between specific immunoperoxidase staining and bacteriological culture in the diagnostic of renal leptospirosis of pigs. Res Vet Sci, 50, 229-32. DOI: [10.1016/0034-5288\(91\)90112-2](https://doi.org/10.1016/0034-5288(91)90112-2)
- Scott P 2018. Leptospirosis in Cattle. National Animal Disease Information Service. Erişim tarihi, 2018.
- Szeredi L, Haake DA 2006. Immunohistochemical identification and pathologic findings in natural cases of equine abortion caused by Leptospiral infection. Vet Pathol, 43, 5, 755-61. DOI: [10.1354/vp.43-5-755](https://doi.org/10.1354/vp.43-5-755)
- Thompson JC, Manktelow BW 1989. Pathogenesis of renal lesions in haemoglobinaemic and nonhaemoglobinaemic leptospirosis. J Comp Path, 101, 2, 201-214. DOI: [10.1016/0021-9975\(89\)90066-2](https://doi.org/10.1016/0021-9975(89)90066-2)
- Yener Z, Keleş İ 2001. Sığırlarda Leptospirosis Üzerinde Klinik ve Patolojik İncelemeler, Vet Bil Derg, 17, 1, 21-26.
- Yıldırım, Y 1996. Et Endüstrisi (4.ed.), Remzi Ofset, Ankara.