

SIĞIRLARDA LEPTOSPIROZİS ÜZERİNDE KLİNİK VE PATOLOJİK İNCELEMELER

Zabid Yener¹@

İhsan Keleş²

Clinical and Pathological Examinations on Leptospirosis in Cattle

Summary: In the present study, leptospirosis was diagnosed in a cattle flock aged between 6 months and 2 years in the suburb of the city of Van. Seven animals were reported to have been died during the infection between December 1999 and January 2000. Clinically, icterus, haemoglobinuria, fever, leucocytosis, weight loss and anorexia were observed. Histopathologically, necrotic hepatitis, haemoglobinuric nephrosis, vasculitis, haemorrhagic and catharal pneumonia, catharal enteritis, focal necrosis and hemosiderosis in spleen were seen. Certain diagnosis was based on the determination of leptospiral antigens by immunoperoxidase staining of sections obtained from liver, spleen, and kidney.

Key words: leptospirosis, cattle.

Özet: Van merkeze bağlı bir mahallede besiye alınan 50 hayvanlık sürüde (yaşları 6 aylık ile 2 yaş arasında değişen Doğu Anadolu Kırmızısı danalar) leptospirosis saptandı. Hastalığın devam ettiği Aralık-1999 ve Ocak-2000 tarihleri arasında besiye alınan sığırlardan 7'sinin öldüğü anlaşıldı. Hayvanlarda klinik olarak kilo kaybı, iştahsızlık, ikterus, hemoglobüri, ateş ve lökositozis belirlendi. Histopatolojik olarak; nekrotik hepatitis, hemoglobürik nefrozis, vaskülit, hemoraji, hemorajik pnömoni ve kataral bronkopnömoni, kataral enteritis, dalakta fokal nekroz ve hemosiderozis görüldü. Hastalığın kesin tanısı karaciğer, dalak ve böbrek kesitlerine uygulanan immunoperoksidaz boyamada leptospiral antijenlerin saptanması ile gerçekleştirildi.

Anahtar kelimeler: Leptospirosis, sığır

Giriş

Leptospirosis, insan ve hayvanlarda *Leptospira interrogans* serovarlarının neden olduğu spiroketal bir enfeksiyondur (Maxie, 1993). Sığırlarda hastalık oluşturan en önemli serovarlar hardjo, pomana, icterohaemorrhagiae, grippytyphosa ve canicola'dır (Ametredjo ve Campbell, 1975). Hastalık hayvanlarda akut septisemi, hepatitis, mastitis, nefritis ve meningitis, ayrıca gebelerde abort, ölü veya erken doğuma neden olarak önemli kayıplara yol açmaktadır (Maxie, 1993). Klinik olarak ateş, ikterus, hemoglobüri, hematüri ve hemolitik anemi ile seyreden hastalık, her yaş grubunda, ancak özellikle buzağılarda ve genellikle de sonbahar ve kış aylarında görülür (Ametredjo ve Campbell, 1975). Leptospirosis zoonoz bir hastalık olup direkt (veneral, transplasental, süt) veya indirekt (deri, ağız, solunum, konjunktival) temasla bulaşır (Seibold ve ark., 1961, Ametredjo ve Campbell, 1975). Böbreklerin proksimal konvolüt tubulusları leptospiraların doğal rezervuarıdır. Hastalığı geçirmiş veya subklinik enfeksiyonlu hayvanların uzun süre idrarla etken çıkarması hastalığın yayılmasında önemli bir faktördür (Maxie, 1993).

Türkiye'de ilk sığır leptospirosis olayı 1949 yılında Akçay ve Pamukçu (1950) tarafından bil-

dirilmiştir. Araştırmacılar hastalığı Ankara Orman Çiftliğinde ateş, anemi, ikterus ve hemoglobüri semptomlarından ölen bir ve bir yaşından küçük 3 montafon dananın böbreklerinde Levaditi yöntemi ile tespit etmişlerdir. Berkin (1982), hamsterlerde deneysel olarak leptospirosis oluşturarak akciğer kanamalarının ışık ve elektron mikroskopik yapısını incelemiştir. Bulu ve ark. (1990), Doğu Anadolu Bölgesi'nde leptospirosis yayılışı ve serotipleri üzerine yaptıkları bir çalışmada serolojik olarak inceledikleri 1445 adet sığırdan 258 (%17.8)'inin, 675 adet koyundan ise 19 (%2.8)'unun *L. interrogans* spp. için pozitif olduğunu rapor etmişlerdir. Özkan ve ark. (1992), sarılık ve kan işeme semptomları görülen 49 sığırdan 8'inde ve 145 koyundan 6'sında kültürel olarak leptospirosis saptamışlardır. Ayrıca Erdoğan ve ark. (1993), 97 sığır abort fötüsünün 2'sinden leptospiral izolat gerçekleştirmişlerdir.

Akut dönemi geçiren hayvanlarda leptospiralar böbreklerde yerleşerek fokal veya diffuz intersitisyel nefritise neden oldukları kaydedilmiştir (Maxie, 1993). Kanada'da yapılan bir mezbaha çalışmasında 955 besi sığırdan 122 (%13)'ünde fokal intersitisyel nefritis saptandığı ve bakteriyolojik olarak 35 olguda (%29) *L. interrogans* spp. izole edildiği bildirilmiştir (Gregoire ve ark., 1987), Skilbeck

ve ark. (1988) da fokal intersitisyel nefritisli 218 böbreğin 18'inden L. hardjo izole edildiğini belirtmişlerdir.

Türkiye'de, sığırlarda bugüne kadar leptospirozis üzerine daha çok serolojik ve kültürel çalışmalar yapıldığı, sadece bir araştırmada patolojik bulguların incelendiği dikkati çekmiştir. Leptospirozis'in teşhisinin zor ve zoonoz bir hastalık olması, ayrıca ülkemizde de sığırlarda yaygın görüldüğü halde bu konuda çok az rapor bulunduğundan, Van'da besi danalarında saptadığımız leptospirozis olgularının sunulması uygun bulunmuştur.

Materyal ve Metot

Bu çalışmanın materyali, Van merkeze bağlı bir mahallede besiyeye alınan, yaşları 6 aylık ile 2 yaş arasında değişen, Doğu Anadolu Kırmızısı danalardan alınmıştır. Besi sahibi 22.12.1999 tarihinde sürüde sarılık belirtileri ile ölen bir danayı Patoloji Anabilim Dalı'na getirmiş ve 4 hayvanın da öldüğünü bildirmiştir. Getirilen hayvanın sistemik nekropsisi yapılmış, alınan anemnez ve saptanan patolojik bulgulardan hastalığın leptospirozis olabileceği düşünülmüş, daha sonraki günlerde de hayvan sahibinden ölümlerin devam ettiği öğrenilmiş ve besi yerine gidilerek ölen bir hayvanın daha nekropsisi yapılmıştır. Leptospirozis'den şüpheli 11 hayvan klinik olarak da muayene edilerek hematolojik muayene için kan, etkenin incelenmesi için ise idrar alındı. İdrar; Quinn ve ark. (1994)'ının belirttiği şekilde karanlık saha metodu ile incelendi. Böylece nekropsisi yapılan 2 adet ve klinik olarak incelenen 11 adet dana araştırmanın materyalini oluşturdu. Histopatolojik incelemeler için akciğer, karaciğer, dalak, böbrek, beyin ve bağırsaktan alınan doku örnekleri %10'luk nötral formalin solusyonunda tespit edildi. Hazırlanan parafin bloklardan 5µ kalınlığında kesitler alınarak hematoxylin-eosin ile boyandı. Ayrıca hemoglobin için böbrek kesitlerine Amido black (Culling ve ark., 1985) boyama metodu uygulandı. İmmunoperoxidaz boyama için ticari kit (Shandon, CadenzaTags peroxidase Kit with AEC, Np: 407300) kullanıldı. Boyama, Ellis ve ark. (1983)'ünün metoduna göre, karaciğer, dalak ve böbrek kesitlerine uygulandı. Primer antikor olarak L. grippotyphosa için hazırlanan poliklonal antiserum kullanıldı.

Bulgular

Klinik Bulgular: Besi sahibinden alınan anemnez göre, hastalığın devam ettiği Aralık-1999 ve Ocak-2000 tarihleri arasında, besiyeye alınan sığırların toplam 7'sinin öldüğü anlaşıldı. Klinik olarak, ateş,

kilo kaybı, iştahsızlık, ikterus, hemoglobinüri ve lökositosis belirlendi. Yapılan hematolojik incelemelerde total lökosit 11.400-18.700/ml (ortalama: 14.160/ml), hematokrit değerleri ise %8-20 (ortalama: %15.2) olarak saptandı. Hemoglobinüri bir hayvandan alınan idrar örneğinin santrifuj edilerek karanlık saha metodu ile yapılan incelemede hareketli ve spiral yapıda leptospira etkenleri mikroskopik olarak tespit edildi.

Makroskopik Bulgular: Nekropsi yapılan her iki olguda da benzer makroskopik değişiklikler gözlemlendi. En dikkat çekici lezyonlara karaciğer, böbrek ve akciğerlerde rastlandı. Karaciğerler şişkin, kenarları kütleleşmiş, gevrek kıvamda ve esmersarımtırak renkteydi. Kesit yüzünde çok belirgin yaygın sarımtırak nekroz odakları saptandı (Şekil 1).



Şekil 1. Karaciğerin kesit yüzünde sarımtırak nekroz odakları.

Safra kesesinin dolgun, içeriği koyu ve kaba granüllü olduğu dikkati çekti. Böbreklerin de hafif şişkin ve açık kahve renginde olduğu, ayrıca böbreklerin üst ve kesit yüzlerinde serpilmiş olarak siyahımtırak-kahve renkte küçük odakların da bulunduğu gözlemlendi (Şekil 2).

İkinci olguda ayrıca böbreklerin yüzeyinden ve kesit yüzünden görülebilen grimtırak renkte fokal odaklar saptandı. Akciğerlerde serpilmiş halde, keskin sınırlı, 2-3 mm çapında, diffuz peteşiyel kanama odakları, belirgin sarımtırak renk değişimi ve şişkinlik saptandı. Diğer olguda ayrıca akciğerin apikal lobunda şişkin, koyu kırmızı renkte hepatize alan görüldü. Dalak şişkin, hafif açık renkte ve kesit yüzü taşkındı. Göz konjunktivaları, ağız mukozası, deri altı dokusu, ön mideler, abomazum, ince bağırsaklar, rektum ve anüs bölgesi sarımtırak bir renk almıştı.

İnce bağırsaklarda ayrıca, mukoza hiperemik, ödemli ve sümüksel bir eksudatla örtülmüştü. Mezenteriyel lenf düğümleri büyümüş, kesit yüzleri ödemli ve hiperemikti. Karın ve göğüs boşluğunda 1 lt, perikard boşluğunda ise 0.5 lt lt'ye yakın açık kırmızı renkte şeffaf bir transudat toplanmıştı. Sidik kesesi şarap renginde bir idrar ile gerginleşmişti. Beyin ve serebellumda hiperemi dışında makroskobik olarak belirgin değişiklik saptanmadı.

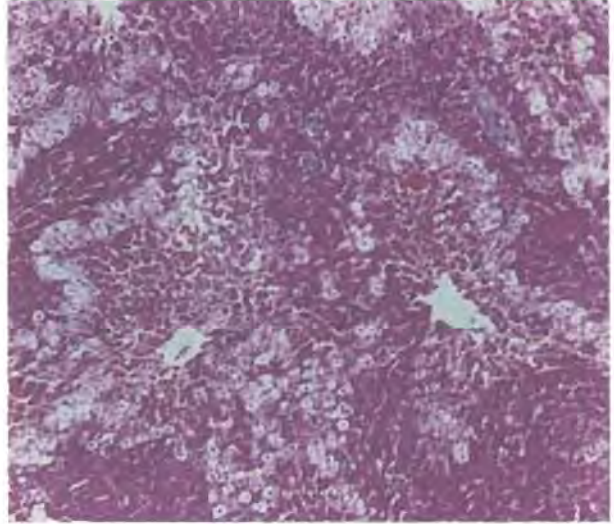


Şekil 2. Böbrek yüzeyinde (a) ve kesit yüzünde (b) serpilmiş olarak siyahımsı-kahve renkte odaklar.

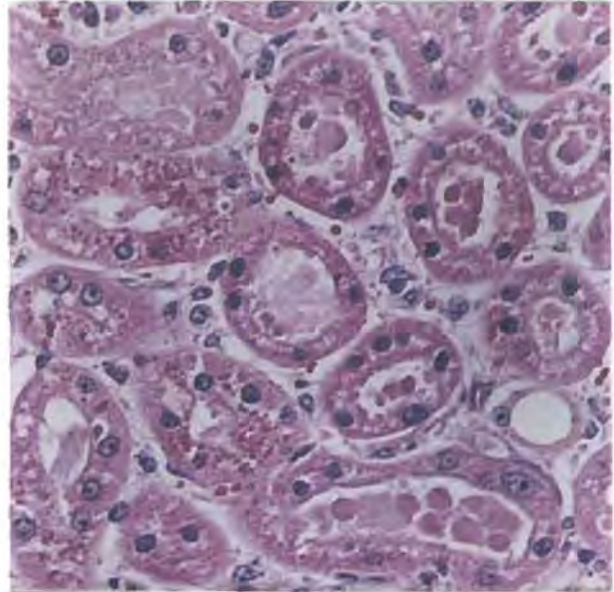
Histopatolojik Bulgular: Akciğerlerde yer yer alveollerin eritrosit ve/veya ödem sıvısı ile dolu, interalveoler septumun da hiperemik olduğu gözlemlendi. Aynı eksudasyona bazı bronşiyollerde de rastlandı (hemorajik pnömoni). Diğer orguda alveollerin lümeninde ayrıca, alveoler makrofaj ve az sayıda nötrofil lökositlerin, yine bazı bronş ve bronşiyollerde de aynı karakterde eksudatın bulunduğu (kataral bronkopnömoni) gözlemlendi. Karaciğerde yaygın periasiner koagülasyon nekrozu, özellikle midzonal bölgelerde hidropik dejenerasyon (Şekil 3), bazı hepatositlerde ve küçük safra kanallarında sarımtırak kahve renginde pigment birikimi (intrahepatik kolestaz) ve portal bölgelerde lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu belirlendi. Böbreklerin proksimal konvolut tubuluslarında yer yer koagülasyon nekrozu, çok sayıda tubulusların lümeninde hiyalin silindirleri ve epitellerin sitoplazmasında hiyalin damlacıkları saptandı (Şekil 4).

Bu hiyalin damlacıklarına bazı glomerulusların Bowman boşluğunda da rastlandı. İntersitisyumda ödem ve lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu dikkati çekti. Böbrek, karaciğer ve dalak dokularına uygulanan Levaditi boyamada leptospiral etkenlere rastlanmadı. Böbrek kesitlerine yapılan hemoglobin boyasında bazı tubulusların sitoplazmasında serpilmiş olarak siyahımtırak renkte pigment damlacıkları (Şekil 5) ve bazı tubulusların lümenlerinde aynı renkte silindirler gözlemlendi. Dalakta hemosiderozis ve fokal koagülasyon nekrozu be-

lirildi. Bu organlarda ayrıca değişik büyüklüklerde fokal kanama odakları, vaskülitis, bazı lenfatik ve venlerde tromboz saptandı. Ayrıca barsaklarda kataral enteritis, serebral hemisferlerde hafif meningitis, gliozis ve küçük kanama odakları tespit edildi.



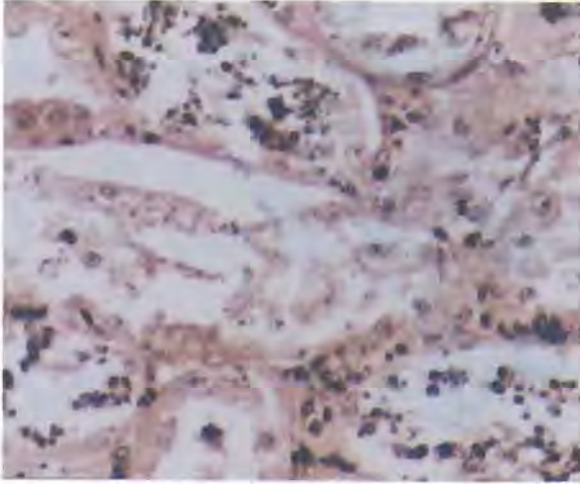
Şekil 3. Karaciğerde vena sentralislerin çevresinde koagülasyon nekrozu ve hepatositlerde hidropik dejenerasyon. H.E.x80.



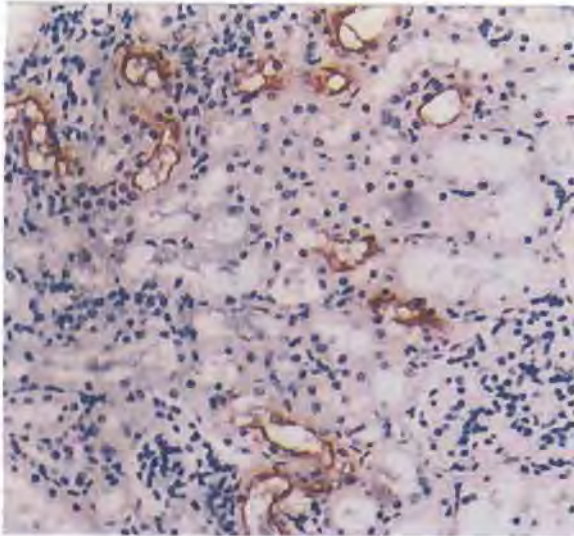
Şekil 4. Tubuluslarda koagülasyon nekrozu ve hiyalin damlacıkları. H.E.x400.

Karaciğer, dalak ve böbrek kesitlerine yapılan immunoperoksidaz boyamada, böbreklerin proksimal tubul epitel hücrelerinin sitoplazmasında ve luminal yüzeylerinde (Şekil 6), intersitisyumda da makrofajların sitoplazmasında leptospiral antijenler

saptandı. Leptospiral antijenlere ayrıca, dalak ve karaciğerde de sadece makrofajların sitoplazmasında rastlandı.



Şekil 5. Tubuluslarda siyahımtırak renkte hemoglobin pigmenti. Amido black X320.



Şekil 6. Tubul epitel hücrelerinin lüminal yüzeylerinde leptospiral antijenler. Immunoperoksidaz-Hematoksilenx200.

Tartışma ve Sonuç

Ülkemizde, yapılan serolojik çalışmalarda leptospirozis'in yaygın olduğu, ancak bu konuda patolojik çalışmaların az olduğu dikkat çekmektedir. Bu durum; hastalığın tanısının bilinen klasik metotlarla zor ve yavaş olmasına bağlanabilir.

Leptospirozis'in klinik olarak teşhisi semptomların spesifik olmaması ve diğer hastalıkların belirtileri ile kolaylıkla karışabilmesinden dolayı zordur (Rienhard, 1951). Bunun nedeni olarak bak-

teriyolojik tanının etken izolasyonu ve identifikasyonu ile mümkün olduğu, ancak kültürün zor ve birkaç ay gibi uzun zaman gerektirdiği ve çoğu kez de başarılı olamadığı vurgulanmıştır (Ainsworth ve ark., 1985). Ayrıca etkenin çok hassas olduğu ve kolaylıkla yıkımlanabildiği, bu nedenle kan, idrar ve dokularda etkeni saptayabilmek için doku örneklerinin taze olması gerektiği ifade edilmiştir (Maxie, 1993). Histolojik kesitlerde leptospiraları ortaya koymak için kullanılan klasik metodun gümüşleme (Levaditi, Warthin Starry) olduğu, fakat bu metodun spesifik ve duyarlı olmadığı kaydedilmiştir (Murphy and Jensen, 1969). Bununla birlikte immunofloresans metodun leptospiraları saptamak için spesifik ve duyarlı olduğu (Maestrone, 1963), ancak immunperoksidaz (Ellis ve ark., 1983, Scanziani, 1991) ve immunogold silver (Skilbeck and Chappel, 1987) boyama tekniklerinin rutin olarak hazırlanan parafin blok kesitlerde leptospiral antijenleri belirleyebildiği için tercih edildiği bildirilmektedir. Çalışmada, Bakteriyojoloji Anabilim Dalı'nda leptospiral kültür için yeterli olanaklar olmadığından ekim yapılamamıştır. Ancak aynı sürede hemoglobüri bir hayvandan alınan idrar örneğinin santrifuj edilerek karanlık saha metodu (Quinn ve ark., 1994) ile yapılan incelemesinde hareketli ve spiral yapıda etkenler mikroskopik olarak tespit edilmiştir. Doku örneklerine yapılan Levaditi boyamasında etkenler saptanamamış ve bunun, dokuların taze olmaması ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Hastalığın kesin teşhisi ancak karaciğer, dalak ve böbrek dokularından hazırlanan parafin blok kesitlerin immunoperoksidaz boyamasında (IP) leptospiral antijenlerin belirlenmesiyle gerçekleştirilebilmiştir.

Rienhard (1951), leptospiremi devresinde leptospiraların kan ve kanı filtre eden organlardan (karaciğer, dalak ve böbrek) izole edilebileceği, daha sonraki dönemlerde ise etkenlerin böbreklerde lokalize oldukları ve izolasyonun böbreklerden yapılabileceğini, Seibold ve ark. (1961) da akut ve subakut nefritli böbreklerde leptospiraların tespit edilebildiğini, ancak ilerleyen subakut ve kronik dönemlerde, lenfositik infiltrasyonun başlaması ile birlikte etkenlerin yıkımlandığını bildirmişlerdir. Ametredjo ve Campbell (1975) ise enfeksiyona karşı humoral cevap oluştuğunda etkenlerin çoğunluğunun yıkımlandığını, ancak böbrek tubulusları gibi antikorların iyi nüfuz etmediği bölgelerde etkenin çoğalmaya devam ettiğini belirtmişlerdir. Thompson ve Manktelow (1989) da enfeksiyondan hemen sonra ölen hayvanlarda renal interstisyum ve kan damarlarında çok sayıda etkenler görülürken, daha uzun süre yaşayan hayvanlarda etkenlere sadece proksimal konvolut tubuluslarda rast-

landığını, bunun da glomerüler filtrasyonun nefronun alt kısımlarına indikçe kompzyonunun değişmesi sonucu leptospiraları yıkımlamasıyla ilgili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Sunulan olgularda dalak, karaciğer ve böbrek kesitleri IP tekniği ile incelenmiş ve böbreklerin proksimal konvolut tubulusların epitellerinin sitoplazmasında ve lümenine bakan yüzeylerinde leptospiral antijenler için belirgin pozitif reaksiyon saptanırken, dalak ve karaciğer kesitlerinde sadece makrofajların sitoplazmasında leptospiral antijenler belirlenebilmiştir. Böbreklerde leptospiral antijenlerin saptanan bu lokalizasyonlarının daha önceki araştırmacıların (Ellis ve ark., 1983, Scanziani ve ark., 1989, Scanziani, 1991) bulgularına benzer olduğu görülmüş, ancak Pereira ve ark. (1997)'inin bu lokalizasyonlara ilaveten saptadığı tubulusların lümeni ve kapillar damar endotel hücrelerinde leptospiral antijenlere sunulan çalışmada rastlanmamıştır. Scanziani (1991), böbreklerde leptospiral etkenlerin ve etkilenmiş tubulusların eşit dağılımı olmadığından böbreklerin farklı bölgelerinden hazırlanan çok sayıda bloğun incelenmesi durumunda IP boyamanın duyarlılığının artırılabilceğini vurgulamıştır. İncelenen literatürlerde hayvanlarda karaciğer ve dalakta leptospiral antijenlerin saptandığına ilişkin bir raporun bulunmadığı, ayrıca sığırlarda leptospiral nefritislerin IP boyama tekniği ile incelenmesi konusunda çok az çalışmanın (Scanziani, 1992) bulunduğu dikkati çekmiştir.

Ülkemizde en yaygın görülen *L. interrogans* serovarın *L. grippotyphosa* olduğu kaydedilmiştir (Ulaş ve Alver, 1973, Bulu ve Ergün, 1987). İmmunohistokimyasal olarak serovarlar arasında kros reaksiyonlar bulunduğu belirtilmiştir (Ellis ve ark., 1983). Serogrup veya serovarların identifikasyonunun farklı spesifik poliklonal antiserumların son dilusyonunda (Ellis ve ark., 1983) veya monoklonal antikorların (Ainsworth ve ark., 1985) kullanılması ile belirlenebileceği bildirilmiştir. Çalışmada *L. grippotyphosa* için hazırlanan poliklonal antiserum kullanılmış, ancak kesin identifikasyon yapılmamıştır.

Sunulan olgularda akciğerlerde kanama ve ödem, karaciğerde periasiner koagülasyon nekrozu ve hidropik dejenerasyon, portal alanlarda lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu, dalakta fokal nekroz odakları, ayrıca bu organlarda vaskülit, kanama, lenfatik ve venlerde tromboz mikroskobik olarak en dikkat çeken lezyonlardı. Bu bulguların bazı araştırmacıların (Akçay ve Pamukçu, 1950; Burdin, 1963; Ametredjo ve Campbell, 1975; Jones ve Hund, 1990; Maxie, 1993) leptospirozis'de bildirdikleri ile benzer olduğu gözlenmiştir. Akut leptospirozis'de böbreklerin şişkin ve koyu renkte ol-

duğu, daha sonraki dönemlerde çok sayıda küçük hemorajik odaklarla bezenmiş bir görünüm aldığı, subakut dönemde ise özellikle kortekste daha az olarak da medullada grimsi renkte çok sayıda odakların olduğu bildirilmektedir (Maxie, 1993). Mikroskobik olarak başlangıçta, tubulus epitellerinde hidropik dejenerasyon, deskuamasyon, nekroz, tubulusların lümeninde hiyalin silindirleri, intersitisyumda lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu, subakut ve kronik dönemlerde bazı tubulus epitellerinde atipik fokal rejeneratif hiperplazi, sinsityal ve çok çekirdekli dev hücrelerinin olduğu kaydedilmektedir (Maxie, 1993). Sunulan olgularda böbreklerin üst ve kesit yüzlerinde saptanan belirgin siyahımtırak-kahve renkli odak ve çizgilerin, yapılan mikroskobik incelemelerde, epitellerinde yoğun pigment birikimi ve lümenlerinde hiyalin silindirleri olan dejenerasyon veya nekrotik tubuluslar olduğu saptandı. Tespit edilen diğer makroskobik ve mikroskobik lezyonların literatür verileri (Hadlow and Stonner, 1955; Burdin, 1963; Maxie, 1993) ile benzerliği görülmüş, ancak tubulus epitellerinde atipik fokal rejeneratif hiperplazi, sinsityal ve çok çekirdekli dev hücrelerine rastlanmamıştır.

Leptospirozis'de renal lezyonların patogenezi konusunda yapılan deneysel çalışmalarda böbreklerdeki dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin oluşumunda; Sitprija ve ark. (1980) ile Arriaga ve ark. (1982), damar ve damar endotel hücre hasarı, permeabilite artışı ve hemoraji sonucu oluşan hipovoleminin sorumlu olduğunu, Thompson ve Manktelow (1989) da leptospiral toksinler ya da hipovolemi ve renal hipoksinin etkili olabileceğini belirtmişlerdir. Thompson ve Manktelow (1989) ayrıca, intersitisyel mononükleer hücre infiltrasyonunun fagositozis, antikor üretimi ve hücresel bağışıklığı sağladığını kaydetmişlerdir. Berkin (1982), hamsterlerde yaptığı deneysel leptospirozis çalışmasında akciğer kanamalarının, kapillar damar endotel hücrelerinde leptospiral toksinlerin etkisiyle oluşan ruptur ve yıkımla ilgili olabileceğini bildirmiştir. Brito ve ark. (1997) da kalp ve damar lezyonlarının; leptospiraların yıkımlanmasıyla serbest kalan toksinler, enzimler ve/veya antijenik ürünler ile bakteriyel migrasyon sonucu oluşabileceğini belirtmişlerdir.

İnsan leptospirozis'inde meningitisin sıklıkla görüldüğü, hayvanlarda ise bu konuda çok az rapor olduğu, ancak serebral hemoraji, gliozis ve vaskülit kaydedildiği bildirilmiştir (Ametredjo ve Campbell, 1975). Olgularımızda serebral hemisferlerde hafif meningitis, gliozis ve küçük kanama odakları saptanmıştır.

Sonuç olarak; leptospirozisin klinik ve patolojik bulgularının spesifik ve patognomik olmaması, bi-

linen klasik metotlar ile de etkenin izolasyon ve demonstrasyonunun zor ve güvenilir olmamasından, özellikle de şüpheli materyalin taze olmadığı durumlarda, IP boyama tekniğinin rutin olarak kesin tanıda kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

- Ainsworth, A., Lester, T. L., Capley, G. (1985). Monoclonal antibodies to *Leptospira interrogans* serovar Pomona, *Can. J. Comp. Med.*, 49, 202-204.
- Akçay, Ş., Pamukçu, M. (1950). Yurdumuz sığırlarında leptospirosis olayları. *Türk. Vet. Hek. Dem. Derg.*, 49-50, 319-329.
- Amatredjo, A., Campbell, R. S. F. (1975). Bovine leptospirosis. *Vet. Bull.*, 43, 875-882.
- Arriaga, A. J. D., Rocha, A. S., Yasuda, P. H., Brito, T. (1982). Morphofunctional patterns of kidney injury in the experimental leptospirosis of the guinea pig (*L. icterohaemorrhagiae*). *J. Path.*, 138, 145-161.
- Berkin, Ş. (1982). Hamsterlerde deneysel leptospirozis'te (*L.grippotyphosa*) akciğer kanamalarının ışık ve elektron mikroskopik incelenmesi. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 29, 188-205.
- Brilo, T., Morais, C. F., Yasuda, P. H., Lancellotti, C. P., Hoshino-Shimizu, S., Yamashiro, E., Ferreira Alves, V. A. (1997). Cardiovascular involvement in human and experimental leptospirosis: pathologic findings and immunohistochemical detection of leptospiral antigen. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 81, 3, 207-214.
- Bulu, A. A., Ergün, O. (1987). Yurdumuz sığır leptospirozisine karşı etkin bir aşı hazırlanması üzerine çalışmalar. *Etilik Vet. Mikrob. Derg.*, 6, 1, 23-24.
- Bulu, A. A., Dörterler, R., Özkan, O., Hoştürk, F. (1990). Doğu Anadolu'nun bazı illerinde (Kars, Artvin, Gümüşhane, Erzurum) sığır ve koyunlarda leptospirosis vakaları, yayılımı ve sero tipleri üzerine araştırma. *Etilik Vet. Mikrob. Derg.*, 6, 6, 49-60.
- Burdin, M. L. (1963). Renal histopathology of *Leptospirosis* caused by *leptospira grippotyphosa* in farm animals in Kenya. *Res. Vet. Sci.*, 4, 423-429.
- Culling, C. F. A., Allison, R. T., Barr, W. T. (1985). "Cellular pathology technique", 4 rd ed., Butterworths, London.
- Ellis, T. M., Robetson, G. M., Hustas, L. And Kirby, M. (1983). Detection of leptospires in tissue using an immunoperoxidase staining procedure. *Aust. Vet. J.*, 12, 364-367.
- Erdoğan, I., Gürel, A., Tekin, C., Uyanık, F., Bitgel, A. (1993). Trakya bölgesinde koyun, keçi ve sığırlarda bakteriyel abortların tespiti ve dağılımı. *Pendik Vet. Mikrob. Derg.*, 24, 23-35.
- Hadow, W. J., Stoenner, G., (1955). Histological findings in cows naturally infected with *leptospira pomona*. *Am. J. Vet. Res.*, 16, 45-56.
- Jones, T. C., Hunt, R. D. (1990). "Veterinary Pathology", 6th Ed. 471-472.
- Gregoire, N., Higgins, R., Robinson, Y. (1987). Isolation of leptospires from nephritic kidneys of beef cattle at slaughter. *Am. J. Vet. Res.*, 48, 370-371.
- Maestrone, G. (1963). The use of an improved fluorescent antibody procedure in the demonstration of *leptospira* in animal tissue. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.*, 27, 108-112.
- Maxie, M. G. (1993). The Urinary System. In. "Pathology of Domestic Animals", Eds. K.V.F. Jubb, P. C. Kennedy and N. Palmer. Vol. 2, 4rd Ed., pp. 447-538, Academic press, Inc., San Diego.
- Murphy, J. C., Jensen, R. (1969). Experimental pathogenesis of leptospiral abortion in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 30, 703-713.
- Özkan, O., Dörterler, R., Hoştürk, F. (1993). Erzurum ili ve yöresindeki sığır ve koyunlarda sarılık ve kan işeme semptomlarıyla seyreden hastalıklarda *Clostridium oedematiens*, *Leptospira* ve kan protozoonlarının insidensinin belirlenmesi. *Etilik Vet. Mikrob. Derg.*, 7, 4, 97-104.
- Pereira, M. M., Andrade, J., Lacerda, M. D., Batoreu, N. M., Marchevsky, R. S., Ribeiro dos Santos, R. (1997). Demonstration of leptospiral antigens on tissues using monoclonal antibodies and avidin-biotin peroxidase staining. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 49, 6, 505-511.
- Quinn, P. J., Carter, M., Markey, B. K., Carter, G. R. (1994). "Clinical Veterinary Microbiology". Wolfe Publishing, London, England.
- Reinhard, K. R. (1951). A clinical pathological study of experimental leptospirosis in calves. *Am. J. Vet. Res.*, 12, 282-291.
- Scanziani, E. (1991). Comparison between specific immunoperoxidase staining and bacteriological culture in the diagnosis of renal leptospirosis of pigs. *Res. Vet. Sci.*, 50, 229-232.
- Scanziani, E., Grieco, V., Tagliabue, S., Mortarino, P., Salvi, S. (1992). Infezione da leptospira interrogans e nefrite interstiziale nel bovino. *Sel. Vet.*, 33, 1009-1015.
- Scanziani, E., Sironi, G., Mandelli, G. (1989). Immunoperoxidase studies on leptospiral nephritis of swine. *Vet. Path.*, 26, 442-444.
- Seibold, H. R., Herbert Keech, B. S., Bokelman, D. L. (1961). Subclinical leptospirosis among cattle (Histopathologic and serologic study). *JAVMA.*, 138, 424-430.
- Sitprijia, V., Pipatanagul, Mertowidjojo, K., Boonpucknavig, V., Boonpucknavig, S. (1980). Pathogenesis of renal disease in leptospirosis: clinical and experimental studies. *Kidney International*, 17, 827-836.
- Skilbeck, N. W., Forsyth, W. M., Dohnt, M. (1988). Bovine leptospirosis: Microbiological and histological findings in cattle at slaughter. *Aust. Vet. J.*, 65, 73-75.
- Skilbeck, N.W., Chappel, R. J. (1987). Immunogold silver staining for visualisation of leptospires in histologic sections. *J. Clin. Microb.*, 85-86.
- Thompson, J. C., Manktelow, B. W. (1989). Pathogenesis of renal lesions in haemoglobinaemic and non-haemoglobinaemic leptospirosis. *J. Comp. Path.*, 101, 2, 201-214.
- Ulaş, H., Alver, H. (1973). Bati Anadolu ve Trakya'da sığırlarda leptospira insidensi ve etken izolasyonu üzerine araştırma. *Pendik Vet. Kontrol Araşt. Enst. Derg.*, 6, 41-49.