



**T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIĞIRLARDA *MYCOPLASMA BOVIS* PNÖMONİLERİNDE  
HİSTOPATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR**

**Rahşan YILMAZ**

**(DOKTORA TEZİ)**

**Bursa-2009**



T. C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

SİĞİRLARDA *MYCOPLASMA BOVIS* PNÖMONİLERİNDE  
HİSTOPATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

Rahşan YILMAZ

(DOKTORA TEZİ)






Danışman: Yard.Doç.Dr. İ.Taci CANGÜL

Bursa-2009

Bu tez Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Biriminin V2008/12 nolu projeye sağlamış olduğu finansal destek ile gerçekleştirilmiştir.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü M¼d¼rl¼ę¼ne,

Bu tez, j¼rimiz tarafından Rahşan Yılmaz'ın doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Adı ve Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Yard.Doç.Dr. İ.Taci CANG¼L	
¼ye	Prof.Dr. H¼daverdi ERER	
¼ye	Prof.Dr. M.M¼fit KAHRAMAN	
¼ye	Prof.Dr. G¼rsel S¼NMEZ	
¼ye	Prof.Dr. Ayšın ŐEN	

Bu tez, Enstit¼ Y¼netim Kurulunun .....29.6.2009..... tarih,  
2009/24 sayılı toplantısında alınan .....1..... numaralı kararı ile kabul edilmiştir.



Prof.Dr. G¼rsel S¼NMEZ  
Enstit¼ M¼d¼r¼

## İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET.....	III
İNGİLİZCE ÖZET.....	IV
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
PNÖMONİLER.....	3
1. Bronkopnömoni.....	3
2. İntersitisyel pnömoni.....	5
3. Özel pnömoni şekilleri.....	7
Embolik-metastatik pnömoni.....	7
Aspirasyon pnömonisi.....	7
Gangrenli pnömoni.....	7
Granülomatöz pnömoni.....	8
<i>MYCOPLASMA BOVIS</i> .....	9
Tarihçe.....	9
Taksonomi.....	9
<i>M. bovis</i> 'in biyolojik özellikleri.....	9
<i>M. bovis</i> enfeksiyonunun epidemiyolojisi.....	10
<i>M. bovis</i> 'in enfeksiyonunun patogenezi ve etkenin immunojenitesi.....	11
<i>M. bovis</i> enfeksiyonunda klinik bulgular.....	12
<i>M. bovis</i> enfeksiyonunun tanısı.....	13
<i>M. bovis</i> pnömonileri.....	13
GEREÇ ve YÖNTEM.....	15
Hayvan materyali.....	15
Dokuların işlenmesi.....	15
Hematoksilen-eozin boyama yöntemi.....	16
Hematoksilen-eozin boyama sonuçları için değerlendirme kriterleri.....	16
Ziehl-Neelsen boyama yöntemi.....	17
Mikrobiyolojik inceleme.....	17
İmmunohistokimyasal boyama yöntemi.....	18
İmmunohistokimyasal boyama sonuçları için değerlendirme kriterleri.....	20
Preparatların incelenmesi.....	21
İstatistiksel değerlendirme.....	21

BULGULAR.....	22
<i>M. bovis</i> pnömonilerinin yaygınlığı.....	22
Makroskobik bulgular.....	23
Histopatolojik bulgular.....	23
Farklı pnömoni tipleri-pnömoni şiddeti arasındaki ilişki.....	24
Ziehl-Neelsen boyama sonuçları.....	26
Mikrobiyolojik inceleme sonuçları.....	26
Pnömoni şiddeti ile koenfeksiyon varlığı arasındaki ilişki.....	29
İmmunohistokimyasal boyama sonuçları.....	29
<i>M. bovis</i> boyama sonuçları.....	29
<i>M. bovis</i> mikrobiyolojik ekim-immunohistokimya sonuçlarının karşılaştırılması .....	29
İmmunohistokimyasal <i>M. bovis</i> pozitivitesi-pnömoni şiddeti arasındaki ilişki.....	33
İmmunohistokimyasal <i>M. bovis</i> pozitivitesi-nekroz varlığı arasındaki ilişki.....	33
Yangı hücreleri için yapılan boyamaların sonuçları.....	33
Yangı hücrelerinin yoğunluğu ve dağılımı.....	34
Bakteriyel koenfeksiyon varlığı-yangı hücresi sayısı arasındaki ilişki.....	35
Nekroz varlığı-yangı hücresi sayısı arasındaki ilişki.....	35
İmmunohistokimyasal <i>M. bovis</i> pozitivitesi-yangı hücresi sayısı arasındaki ilişki.....	36
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	37
Etkenin yaygınlığı.....	37
Makroskobik bulgular.....	38
Mikroskobik bulgular.....	38
Pnömonilerin sınıflandırılması.....	38
Hastalığın gelişiminde bronş ve bronşiyollerin rolü.....	39
Nekroz gelişimi.....	39
Koenfeksiyonlar.....	40
İmmunohistokimyasal boyamalar.....	41
<i>M. bovis</i> boyamaları.....	41
Yangı hücrelerinin boyamaları.....	43
KAYNAKLAR.....	45
TEŞEKKÜR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	54

## ÖZET

Bu çalışmada Bursa ili ve çevresinde yer alan mezbahalarda kesilen sığırlarda *Mycoplasma bovis* pnömonilerinin prevalansının ortaya konması, etkenin oluşturduğu pnömoninin histopatolojik incelenmesi, etkenin bakteriyolojik ve immunohistokimyasal olarak ortaya konması ve etkene karşı gelişen yangısal yanıtın karakterize edilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada mezbahalarda kesilen toplam 1413 sığırın akciğerleri incelenmiş, bunlardan 136'sında (% 9,63) pnömoni bulguları gözlenerek örnek alınmıştır. Yine Patoloji Anabilim Dalı arşivindeki pnömoni bulgulu 10 vaka da çalışmaya dahil edilmiştir. Yapılan mikrobiyolojik ekim ve immunohistokimyasal boyamalar sonrası toplam 39 hayvanda *M. bovis* pnömoni sebebi olarak ortaya konmuş, böylece bölgemizde pnömoni bulguları gösteren hayvanlarda *M. bovis*'in prevalansı % 26,71 olarak tespit edilmiştir. İncelenen olgularda *M. bovis* pozitif hayvanlarda en sık olarak etkilenen akciğer lobunun sağ kranial lobun pars kranialisi (*pars cranialis dextra*) olduğu saptanmıştır. *M. bovis* 30 vakada tek etken olarak bulunurken, 8 vakada diğer bakteriyel etkenler de izole edilmiştir. Bir vakada sadece immunohistokimyasal inceleme sonucunda teşhis konmuştur.

Pnömoniler eksudat yapısı ve etkilenen kısımlar yönünden incelendiğinde toplamda 7 grupta sınıflandırılmış, en fazla gözlenen pnömoni tiplerinin fibrinopurulent bronkopnömoni (10 hayvan), non-purulent bronkointersitisyel pnömoni (6 hayvan) ve nekrotik-fibrinopurulent bronkopnömoni (6 hayvan) olduğu görülmüştür. *M. bovis* pnömonili hayvanların 18'inde akciğerlerde nekrotik alanların (11 kazeifikasyon nekrozu ve 7 koagulasyon nekrozu) varlığı gözlenmiştir.

Etken 24 hayvanda immunohistokimyasal boyamalar ile ortaya konmuş, etkene en fazla bronş ve bronşiyol epitellerinde (20 hayvan) rastlanmıştır. Yangı hücreleri için yapılan boyamalar *M. bovis* pnömonilerinde en fazla bulunan yangı hücresinin T lenfosit olduğunu göstermiş ve *M. bovis* pnömonilerinde hücrel savunmanın rolünü desteklemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *M. bovis*, pnömoni, immunohistokimya, sığır

## SUMMARY

The aim of this study was to determine the prevalence of *M. bovis* pneumonia in slaughtered cattle in Bursa region, to perform the histopathological investigation of these cases, to demonstrate the agent with bacteriological and immunohistological examination and to characterize the inflammatory response against the agent.

A total of 1413 lungs were examined at slaughterhouses and 136 lungs (9.63 %) with signs of pneumonia were sampled. Ten pneumonic lungs from the department archive were also included in the study. Bacteriological and immunohistochemical examination revealed *M. bovis* as the cause of pneumonia in 39 animals, thus the prevalence of *M. bovis* in pneumonic lungs in Bursa region was determined as 26.71 %. The most commonly affected lung lobe was the cranial part of the right cranial lobe. *M. bovis* was the only microorganism in 30 animals, whereas in 8 animals other bacteria were also isolated. In one case, the diagnosis was made solely on the basis of the immunohistochemical examination results.

In the classification of pneumonia regarding the exudate and the anatomic pattern, the most common pneumonia type was fibrinopurulent bronchopneumonia (10 animals), non-purulent bronchointersitial pneumonia (6 animals) and necrotic-fibrinopurulent bronchopneumonia (6 animals). Necrotic areas (11 caseification and 7 coagulation) were observed in a total of 18 cases.

The agent was demonstrated by immunohistochemistry in 24 animals, bronchi and bronchioli epithelia being the most commonly (20 animals) invaded histological structures. Immunohistochemistry revealed T cell as the most prominent inflammatory cell in *M. bovis* pneumonia, thus supporting the role of cellular defense in the pathogenesis of these pneumonia in cattle.

**Keywords:** *M. bovis*, pneumonia, immunohistochemistry, cattle



## GİRİŞ

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2008 yılı geçici verilerine göre ülkemizde toplam 10.859.942 adet sığır bulunmakta ve 482.458 ton olan yıllık et üretiminin % 76,78'i (370.619 ton) ve 10.889.044 ton olan yıllık süt üretiminin % 90.93'ü (9.901.180 ton) sığırlardan sağlanmaktadır (1). Bu rakamlar ülke ekonomisi açısından sığırcılığın ne kadar önemli olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

Ülkemiz sığır yetiştiriciliği bakımından oldukça geniş potansiyele sahip olmasına rağmen, üretim açısından istenen düzeyin gerisinde bulunmaktadır. Hayvansal üretimin istenen düzeyde olmamasının nedenleri arasında hayvanlarda gözlenen enfeksiyonlar, hayvan yetiştiricilerinin yeterince eğitilmiş olmaması, hayvanlarda bakım şartlarının kötülüğü ve bilinçsiz besleme önemli bir yer tutmaktadır.

Yetiştiricilikte ekonomik kazanç ancak sağlıklı hayvan popülasyonlarının varlığı ile sağlanabilir. Komşu ülkelere ülkemize kaçak hayvan girişinin olması, bölgeler arası hayvan hareketlerinin kontrolsüz yapılması, farklı bölgelerden gelen hayvanların bir arada tutulması gibi faktörler hayvanlar arasında hastalıkların kolayca yayılmasına ve hastalıklar ile mücadelenin daha da zorlaşmasına neden olmaktadır.

Gerek dünyada, gerekse ülkemizde sığır yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyen en önemli faktörlerden birisi de solunum sistemi enfeksiyonlarıdır. Sığırlarda şekillenen solunum sistemi enfeksiyonları yemden yararlanmada ve canlı ağırlık artış oranında azalmalara sebep olmakta, şiddetli olaylar ölümle sonuçlanmaktadır. Hastalık sürecinde kullanılan ilaç ve veteriner hekim masrafları ile mezbahalarda kesilen hayvanlarda pnömoni lezyonlarına bağlı olarak şekillenen kayıplar, ekonomik zararın boyutlarının daha da büyümesine neden olmaktadır. Yine hastalıklı et ve et ürünleri ile insanlara bulaşan bazı zoonoz hastalıklar için akciğer dokusu kaynak oluşturabilmektedir.

Sığırlarda gözlenen solunum sistemi enfeksiyonlarının büyük kısmını pnömoniler oluşturur. Pnömoniler pek çok etiyolojik sebebe bağlı olarak, bronş ve bronşiyollerin yangısı ile başlayan, çeşitli hazırlayıcı faktörlerin de etkisi ile lobar pnömoni ve plöropnömoni şekline kadar dönüşebilen akut, subakut ve kronik seyirli enfeksiyonlardır (2). Pnömonilerin oluşmasında patojen bakteriler, viruslar ve mantarlar önemli rol oynayan etkenlerdir. Bakım ve besleme hataları, ani iklim değişiklikleri, tozlu havanın solunması, yorgunluk, sıkışık barındırma ve vücut direncini zayıflatan diğer hastalıklar da pnömonilerin hazırlayıcı nedenleridir (3-7).

Mikoplazmalar sığırlarda gözlenen bakteriyel pnömoni olaylarında önemli bir yer tutmaktadır (8). Mikoplazmaların serolojik teşhisi için spesifik ve hassas ticari kitler bulunmadığı için, büyükbaş hayvanlarda sebep olduğu enfeksiyonların önüne geçmek ve bunları kontrol altına alarak ekonomik kayıpların önüne geçmek zorlaşmaktadır. Ayrıca etkili tedavi ve aşılama programı olmadığı için et ve süt endüstrisinde, özellikle prevalansın yüksek olduğu Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde, önemli ekonomik kayıplar meydana gelmektedir (6, 7).

Ülkemizde, sığırlarda solunum sistemi enfeksiyonlarından kaynaklanan ekonomik kayıplar üzerine yapılmış detaylı çalışmalar bulunmamaktadır. İngiltere’de yılda yaklaşık 1.9 milyon sığırın solunum sistemi enfeksiyonu geçirdiği ve oluşan kaybın 54 milyon Sterlin olduğu hesaplanmıştır (8). Yaklaşık 90 milyon baş sığırın bulunduğu Avrupa’da solunum sistemi enfeksiyonlarının yaklaşık 576 milyon Avro kayba sebep olduğu ve bu kayıpların yaklaşık dörtte birinden *Mycoplasma bovis*’in sorumlu olduğu düşünülmektedir (6). Amerika Birleşik Devletleri’nde ise sadece *M. bovis*’ten kaynaklanan kilo kaybı ve karkas değerinin azalmasına bağlı olarak yıllık 32 milyon ABD Doları kayıp meydana geldiği hesaplanmaktadır (7).

Ülkemizde Erzurum ilinde sığırlarda gözlenen 167 pnömoni olgusu üzerinde yapılan bir araştırmada *Mycoplasma spp*’nin prevalansının % 3,6 olduğu bildirilmiştir (9). Trakya ve Marmara Bölgesi’nde buzağı ve dana pnömonilerinde etken izolasyonuna yönelik olarak yapılan bir araştırmada da *M. bovis*’in prevalansının % 7,5 olduğu ortaya konmuştur (10). Kars bölgesinde 100 adet pnömonili hayvanda yapılan bir diğer çalışmada fibrinli pnömoni görülen 4 hayvanda bakteriyolojik incelemeler sonrasında *M. bovis* tek başına, 1 olayda ise *M. bovirhinis* ile koenfekte *M. bovis* ve *M. dispar* izole edilmiştir (11). Ayrıca Pendik Araştırma Enstitüsü’nde 75 buzağı akciğeri üzerinde yapılan bir çalışmada buzağı akciğerlerinde *M. bovis*’in prevalansının % 41,3 olduğu rapor edilmiştir (12). Konya bölgesi mezbahalarında kesilen 4062 besi danasından 473’ünde (%11,64) pnömoni saptanmış, ancak etken izolasyon ve identifikasyonu yapılmamıştır (13).

Bu çalışmanın amacı, Bursa bölgesindeki mezbahalarda kesilen sığırlara ait pnömonili akciğerlerde *M. bovis*’in varlığını mikrobiyolojik ekim ve izolasyon ile göstermek, immunohistokimya yöntemi ile etkeni ortaya koymak, hastalığın farklı tablolarını sınıflandırmak, bu tablolarda görülen yangısal reaksiyonun niteliğini yine immunohistokimya yöntemi ile ortaya koymak ve hastalık hakkındaki temel bilgilere katkıda bulunmaktır.

## GENEL BİLGİLER

### PNÖMONİLER

Pnömoni, en basit haliyle çeşitli etkenlere bağlı olarak akciğerlerin yangılanması olarak tanımlanabilir. Kongenital ve edinsel yetersizlik, çevre koşulları, bakteriyel, viral ve mikotik etkenler, taşınma stresi, dehidrasyon, aşırı soğuk, toksik gaz ve partiküllerinin solunması, uzun süreli kortikosteroid kullanımı ve kronik kalp hastalıkları gibi çeşitli etkiler sonrasında pnömoni şekillenmektedir (14, 15). Pnömoni gelişimi etkenin yapısına, bulaşma yoluna ve virülensine bağlı olarak değişim gösterir. Pnömoniler;

- Sebep olan etkene göre (*Pasteurella* pnömonisi, distemper pnömonisi gibi)
- Eksudatın tipine göre (supuratif, fibrinli pnömoni gibi)
- Morfolojik özelliğine göre (gangrenöz, proliferatif, embolik pnömoni gibi)
- Lezyonun dağılımına göre (fokal, kranioventral, difüz, lobar pnömoni gibi)
- Epidemiyolojik özelliğine göre (enzootik bulaşıcı sığır pnömonisi gibi)
- Coğrafi bölgelerine göre (Montana progresif pnömonisi gibi)
- Çeşitli özelliklerine göre (atipik, aspirasyon pnömonisi gibi)
- Süresine göre (akut, subakut, kronik pnömoni gibi)

isimlendirilebilir. Ancak evcil hayvanlarda pnömonileri patolojik olarak kıvam, dağılım, görünüm ve eksudatını baz alarak lobuler ve lobar bronkopnömoniler, intersitisyel pnömoniler ve özel pnömoni şekilleri (embolik-metastatik, aspirasyon, gangrenli ve granülomatöz pnömoni) olarak sınıflandırmak mümkündür (14, 16).

#### 1. Bronkopnömoni

Pnömoninin bronş, bronşiyol ve alveollerde oluşmasıdır (16). Bronkopnömonide yangı bronşioalveolar bölgede başlar, daha sonra proksimalde bronşiyol ve bronşlara, distalde alveolar duktus ve respiratorik asinuslardaki alveollere yayılır (14). Evcil hayvanlarda en sık rastlanan pnömoni tipidir (16). Lezyonlara daha çok akciğerin kranioventral bölgelerinde rastlanmaktadır. Bu durum kranial bölgelerde hava yollarının kısa ve çok dallı olması, hava sirkülasyonunun farklı olması ile ilişkilidir (14-16). Distal respiratorik sistemdeki bronşioalveolar bölgeler enfeksiyöz etkenlerin kolayca hasar oluşturabileceği alanlardır. Yapılan birçok çalışmada akciğerdeki savunma sisteminin olumsuz yönde etkilenmesi sonucu patojen birçok etkenin bronşioalveolar bölgeyi kolayca geçerek bronkopnömoniye neden olduğu ortaya konmuştur. Bronkopnömoniler genellikle bakteri ve mikoplazma etkenlerine bağlı veya aspirasyon kökenlidir. Etken genel anlamda

aerojen yoldan veya aspirasyon yoluyla akciğere ulaşır. Bronkopnömonilerde öncelikle bronş ve bronşiyol mukozası etkilenir, daha sonra yangı bronş ve bronşiyollerin submukozası ile alveollere ilerler. Sporadik bronkopnömoni olaylarında düşünlük, immun yetmezlik, daha öncesinde varolan kardiyopulmoner bir hastalık ve uzayan anestezi yardımcı ya da hazırlayıcı rol oynar (16).

Bronkopnömonilerdeki tipik makroskobik görünüm kraniyoventral bölgelerdeki düzensiz konsolide alanlardır. Hafif şiddetteki olaylarda plöra genellikle düzgün ve parlaktır. Ancak yangı şiddetlendiğinde plörada sarı-gri renkli fibrinli ya da fibrinopurulent eksudat toplanır; kırmızımsı bir renk ve pürüzlü bir görünüm dikkati çeker. Bronşiyol epitellerinde pnömoniyeye sebep olan etkene bağlı olarak nekrotikten hiperplastığe değişen derecelerde lezyonlar görülür ve peribronşiyolar bağ dokuda hafif akut yangı belirtileri dikkati çeker. Bronşlarda da benzer durum gözlenir, ancak şiddeti daha düşüktür (14, 15). Bronkopnömoniler eksudatın tipine göre supuratif ve fibrinli (lobar) pnömoni şeklinde isimlendirilir. Ancak bazen isimlendirme zordur; bu iki tip bir arada bulunur veya birbirine dönüşebilir.

Supuratif bronkopnömoni kraniyoventral loblara yerleşimiyle karakterizedir ve organa yapılan enine kesitlerde kesit yüzünden değişik renk ve kıvamda mukopurulent eksudat akışı ile kendini gösterir. Bu tip pnömoni çoğunlukla lobuler konsolidasyon şeklindedir ve bu yüzden lobuler pnömoni şeklinde de isimlendirilir. Patojenin tipi ve yangının süresine bağlı olarak akciğerin makroskobik görüntüsü farklı şekiller alır. Genellikle ilk 12 saat içinde akciğerler hiperemik ve ödemlidir. Yaklaşık 48 saat sonra bölgeye nötrofillerin de infiltre olmasıyla konsolidasyon ve sert bir kıvam oluşur. Hiperemik görüntü 3-5 gün içinde kaybolur ve gri-pembe görüntü oluşur (16). Bronkopnömonilerde akciğerler makroskobik olarak et renginde ve kıvamında görülür; lezyonlar yama tarzındadır (14). Hava boşluklarına eksudat dolması sebebiyle akciğerden alınan parçalar tespit sıvısına atıldığında yüzmez.

Yangının kronik hal aldığı durumda ise lökosit infiltrasyonu, fibrin çıkışında ve kapillar hacmindeki küçülme sonucunda renk açılarak grileşir. İyileşmesi tam olarak mümkün olmayan bu tipteki yangı genellikle fibrozis, bronşiektazi, atelektazi, adezyon ve apseleşmeler ile sonuçlanır. Kronik supuratif pnömonilerde goblet hücrelerinde ve bronş ilişkili lenfoid dokuda (bronchus associated lymphoid tissue-BALT) hiperplazi görülebilir.

Fibrinli (lobar) bronkopnömoniler supuratif bronkopnömonilerden farklı olarak lobüllerde sınırlı değildir. Birçok hasta lobül vardır ve yangı tüm lobu kaplayana kadar hızla yayılır. Genel olarak fibrinli bronkopnömoni daha ciddi akciğer zedelenmelerinde

oluşur ve daha şiddetli seyrederek hayvanın ölümüne sebep olur. Olayların yaklaşık olarak % 30'unda şiddetli toksemi sonucunda klinik belirtiler ve ölüm ortaya çıkar. Supuratif tipteki pnömonilerde olduğu gibi başlangıçta kırmızı konsolidasyon alanları vardır. Yaklaşık 24 saat sonrasında interlobuler septum ödem ve fibrin çıkışı ile genişler; arteriol, venül ve lenf damarları içerisinde trombozlar görülür. Akciğer lobları makroskopik olarak mermer görüntüsü alır. Fibrinli içerik, Kohn porları aracılığıyla alveolden alveole geçer. Fibrin, nötrofiller için kemotaktiktir ve bir süre sonra alveol lümenlerine nötrofiller ve ardından makrofajlar infiltre olur. Nötrofillerden salgılanan fibrinolitik enzimler ile gelişen lizis devresi hayvanlarda oldukça seyrek şekillenir; bunun yerine evcil hayvanlarda lezyonlu dokularda çoğunlukla organizasyon şekillenir (16). Bunun nedenleri:

- 1- Fibrinli eksudatın çoğunlukla eritilememesi ve
- 2- Lenf damarlarındaki trombozların rezorpsiyonu güçleştirmesidir.

Akciğer zamanla küçülerek et rengi ve kıvamını alır (carnification) (15). Organize olmuş eksudatın bronşiyol lümenine yapışmasıyla oluşan duruma bronşiyolitisi obliterans denir. Nekrotik akciğer dokusunda saprofitik bakteri üremesiyle gangrenli pnömoni oluşur. Kronik plörit sonucu toraks duvarına ve perikarda yapışmalar şekillenir (16). Kollajen ipliklerin artmasıyla granülasyon dokusu nedbe dokusuna dönüşür (akciğer indurasyonu veya sklerozisi). Bronkopnömonilerdeki kalıcı lezyonlardan ilki atelektazidir ve bunu kalıcı obstruktif bronşiyolitisi ve bronşitisi izler. Lobuler septumun gelişiminin belirgin olduğu hayvanlarda bronkopnömoninin zayıf rezolüsyonu ve kollateral ventilasyonun yetersizliğine bağlı olarak kronik bronkopnömoni şekillenebilir. Şiddetli enfeksiyonlarda lobüllerde nekrozlar meydana gelebilir (pneumonia fibrinosa necroticans – necrotic fibrinous pneumonia). Ruminantlarda mikoplazmaların neden oldukları fibrinli pnömonilerde çoğunlukla geniş nekrotik akciğer dokusunu saran bağ doku ile karakterize sekesterler oluşur. Ayrıca akciğer apseleri, plöra empiyemi ve akciğer gangreni gibi komplikasyonlar da gelişebilir (15, 16).

## **2. İntersitisyel Pnömoni**

Alveol duvarının üç katmanından (alveol epiteli, basal membran, damar endotelisi) herhangi birinde hasar ve yangı oluşmasıdır. Bu tip pnömoniler nekropside teşhisi en zor olan ve histopatolojik incelemeyi zorunlu kılan pnömoni tipidir. Patojenezinde aerojen veya hematojen yolla akciğere gelen etken önemli bir rol oynasa da toksik gazlar, viral enfeksiyonlar (Influenza, IBR, distemper, vs), septisemi ve endotoksinler de aktif olarak bu tipteki yangılara sebep olabilirler. İntersitisyel pnömoniler histolojik olarak akut ve kronik

olarak sınıflandırılırlar. Akut intersitisyel pnömoni, tip I pnömositler ve endotelde oluşan hasar sonucu alveol lümenine plazma proteini geçmesiyle başlar (16). Mikroskopik olarak peribronşial, intralobuler ve interlobuler intersitisyel pnömoniler ayırt edilebilir.

Peribronşial ve intralobuler intersitisyel pnömoniler genellikle birlikte bulunur. Plöra yangılarından kaynaklanan interlobuler intersitisyel pnömoniler seyrekdir. Peribronşial intersitisyel pnömonilerde bronşların çevresinde manşet tarzında çoğunlukla mononükleer hücre infiltrasyonları şekillenir (peribronşitis nodoza) (14). Yangının takip eden sürecinde alveollerde hiyalin membranlar oluşur ve tip I pnömositlerdeki kaybı karşılamak için tip II pnömositlerin proliferasyonu alveol duvarı kalınlaşır. Akut devre süresince gözlenen en belirgin lezyon alveollerin seröz- fibrinli bir eksudat ile dolu olması, alveol duvarında ödem ve konjesyondur. Alveolar eksudatta eritrosit ve lökositler karışık haldedir. Yangı alveol duvarında daha baskın olsa da bronşiyol ve alveol lümenlerinde dökülmüş epitel hücrelerini, makrofaj ve lenfosit infiltrasyonlarını görmek mümkündür (16). Alveol septumunda yıkım çoğu zaman hematojen yolla olmaktadır. Kanla gelen kimyasal maddeler mikrozomal enzim sistemi ile reaktif ara ürünlere metabolize olduktan sonra toksik etkilerini gösterebilirler. Kimyasal madde ve etkilenen hayvan türüne bağlı olarak yıkım Clara hücreleri ile sınırlı kalabilir ya da diffuz lezyonlar meydana gelebilir. Şiddetli, akut ve diffuz yıkım toksik maddenin konsantrasyonu ile ilişkilidir (14, 16). Pnömoni etkeni kalıcıysa yangı kronik forma dönüşür ve bu da alveol duvarında fibrozis, mononükleer hücre infiltrasyonu ve tip II pnömosit hiperplazisi ile karakterizedir (16). Yangı devam etmez ve alveol duvarında şiddetli fibrözleşme olmazsa tip II epiteli, tip I epiteline dönüşerek tam bir iyileşme gerçekleşebilir. Alveolar tip II hücrelerinin çoğalması intersitisyel pnömonilerin eksudatif devreden proliferatif devreye geçtiğini gösterir. Kronik olgularda bağ dokusu artışı nedeniyle intersitisyumda genişleme, peribronşial nodüller ve yaygın amfizem görülür. İntersitisyel pnömoniler tamamen veya bakteriyel komplikasyonlar sonucu organizasyonla iyileşirler.

Makroskopik olarak lezyonlara tüm akciğer loblarına dağılmış vaziyette rastlanılmasına rağmen, dorsokaudal bölgeler daha sıklıkla etkilenir. İntersitisyel pnömoniye sahip akciğer loblarının kesit yüzü et görünümündedir ve nekropside karakteristik olarak toraks açılınca üzerinde kaburga izleri bulunan akciğer loblarında kollaps şekillenmez ve belirgin bir eksudata rastlanmaz (14).

Bronkointersitisyel pnömoni terimi hem intersitisyel, hem de bronkopnömoni özelliklerinin birlikte görüldüğü pnömonileri tanımlamak için kullanılır. Epitelde hasara

yol açan sitokinlerden dolayı bölgeye nötrofiller gelir. Tip I pnömosit hasarını dengeleyebilmek için Tip II pnömosit proliferasyonu gözlenir (16).

### **3. Özel Pnömoni Şekilleri**

#### **Embolik-Metastatik Pnömoni**

Akciğerdeki hasarın hematogen kaynaklı olduğu ve yangının arteriol ve kapillar merkezli şekillendiği pnömonilerdir. Bakterilerin akciğer enfeksiyonu yapabilmesi için akciğer epiteline, damar endoteline veya damar içinde trombusa tutunması gerekir. Bakteri bir kez tutunduğunda ilgili hücrelere zarar verir ve daha derin dokulara (bazal membran, intersitisyum) ulaşır (16). Embolik pnömoni bütün loblara yayılmış multifokal lezyonlarla karakterizedir. Erken dönemde lezyonlar hiperemik haleyle çevrili küçük beyaz noktalar şeklindedir. Oldukça şiddetli olmadığı sürece bu pnömoni tipi ölümcül değildir ve nekropside görülmesi nadirdir (16). Apseleşmenin komplikasyonları plöral fistülleşme ve empiyem, yırtılan kan damarlarına bağlı kanamalar ve apselerin bronşlara açılması sonucu şekillenen öldürücü supuratif pnömonilerdir (15).

#### **Aspirasyon Pnömonisi**

Yabancı cisimlerin, çoğunlukla da sıvıların hava yolları ile akciğere ulaşması sonucu oluşan pnömoni tipidir. Aspire edilen materyalin yapısı, bakteri taşıyıp taşımadığı ve bu materyalin akciğerdeki dağılımına göre yangısal yanıt değişiklik gösterir (15).

Yutkunma güçlüğüne neden olan kuduz, farinks felci, Aujesky hastalığı, botulismus, baş travmaları, özefagus tıkanmaları gibi farklı durumlarda gıda maddeleri aspire edilebilir. Yine üst solunum yollarının irinli nekrotik yangıları, perforasyonları, hatalı traheatomi, larenks operasyonları ve intubasyon anestezisi sırasında da aspirasyon ile yabancı cisimler öncelikle kranioventral akciğer kısımlarında irinli-apseli bronkopnömoni oluşturabilir.

#### **Gangrenli Pnömoni**

Akciğer parankiminde şiddetli nekrozun bulunduğu diğer formdaki pnömonilerin bir komplikasyonudur. Saprotik ve putrefaktif bakteriler ile birlikte yabancı cisimlerin aspirasyonu sonucu oluşabilir. Sarımtırak-siyah ya da yeşilimsi-siyah renk ve kötü koku ile karakterizedir. Kısa sürede çok sayıda, düzgün şekilli olmayan kavitasyonlar şekillenir. Bu odaklar plöraya kadar uzanırsa kötü kokulu empiyem ve putrefaktif pnömotoraks ile sonuçlanabilir (15).

## **Granülomatöz Pnömoni**

Aerojen veya hematojen yolla gelen enfeksiyöz veya başka tipte etkene karşı fagositozun baş edemediği durumlarda makrofaj, lenfosit, dev hücreleri ve az miktarda nötrofilin lokal olarak yangı oluşturmalarıdır. Bu tip pnömoni embolik ve intersitisyel pnömoniye benzer özellik gösterir. Bu pnömoninin ayrı başlık altında incelenmesinin sebebi çok özel bir yangısal cevabın oluşmasıdır. Genel kural olarak etkenin fagositoza dayanıklı ve dokuda uzun süre kalabilen özellikte olması gerekmektedir (16). En önemli nedenler arasında tüberküloz ve mantar enfeksiyonları yer alır. *Actinobacillus*, *Actinomyces* ya da *Nocardia* spp. gibi etkenlere bağlı olarak, akciğer parankiminde travma ya da aspire edilen yabancı cisimler ile ilgili lokal yıkım sonucu ya da sistemik immun yetersizlik durumlarında oluşabilir. Ayrıca solunan ya da aspire edilen çözünmeyen partiküller de (örneğin nişasta) granülomatöz pnömoniye neden olabilmektedir (15). Feline infectious peritonitis (FIP) virusu granülomatöz pnömoniye sebep olan nadir viral etkenlerdendir. Bu hastalıkta çeşitli dokulardaki damar endotellerine antijen-antikor kompleksleri çökelir, vaskülit oluşur ve granülomatöz yangı gelişir.

Granülomatöz pnömonide kazeöz veya kazeöz olmayan granülomlara rastlanır. Mikroskopisinde granülomlar, ortada nekrotik bir alan ve çevreleyen makrofaj, dev hücreleri ve bütün bunları çevreleyen lenfosit infiltrasyonlarıyla, bağ doku şeklinde tipik yapı göstermektedir. Özel boyamalarla etkeni görmek çoğu olayda mümkündür (16).



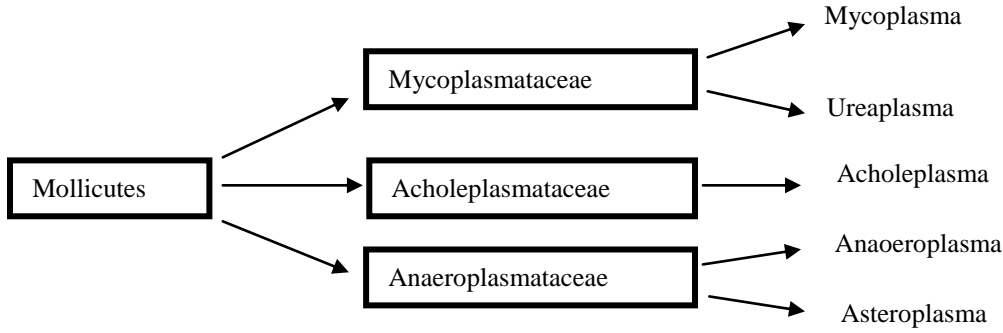
## **MYCOPLASMA BOVIS**

### **Tarihçe**

*Mycoplasma* ilk olarak 100 yıl önce Pasteur Enstitüsü'nde artritisi ve pnömonili, sığırlardan izole edilmiştir. *M. bovis* (*Mycoplasma agalactiae* subsp. *bovis*) ise ilk olarak 1961 yılında ABD'de mastitisli süt sığırlarından (17) ve 1976 yılında da pnömonili buzağılardan bir solunum sistemi etkeni olarak izole edilmiştir (18).

### **Taksonomi**

Mikoplazmalar *Mollicutes* sınıfının üç ailesinden biri olan *Mycoplasmataceae* ailesinin iki cinsinden biridir. *Mycoplasma* (Mikoplazma) terimi; 'myces' (mantar) ve 'plasma' (biçim) kelimelerinin bir araya gelmesiyle oluşmuştur (19). *M. bovis*, *Mycoplasma* türüne dahildir (20). Etken pek çok yönden *M. agalactiae*'ya benzer. Bu iki tür arasında 16S RNA'da sadece 8 nükleotid fark bulunmaktadır (21). Tola ve arkadaşları *M. bovis*'in genomik büyüklüğünü  $961 \pm 18,9$  Kbp olarak belirlemişlerdir (22).



**Şema-1** Mollicutes sınıfının taksonomisi (19)

### ***M. bovis*'in Biyolojik Özellikleri**

Diğer mollicuteslere benzer şekilde etken pleomorfik yapıdadır. Hücre duvarı yerine lipid, karbonhidrat ve proteinlerden oluşan unit membrana (23) ve DNA'sında düşük Guanin (G) ve Sitozin (C) oranına (% 27,8-32,9) sahiptir (24). *M. bovis* glukozu fermente etmez, arjinini hidrolize etmez; bunların yerine organik asitlerden laktat ve piruvatı enerji kaynağı olarak kullanır (25). Mikoplazmalar besiyerine hayvansal protein, sterol komponenti ve DNA kaynağı ilavesine ihtiyaç duyarlar. Tipik koloni yapısı 'sahanda yumurta' şeklinde görülür ve bu yüzeyde ve agarın derinlerine doğru üremeden kaynaklanır (19).

Mikoplazmaların yüksek sıcaklık, deterjanlar, dezenfektanlar ve kuruma gibi çevresel faktörlere duyarlı oldukları bilinmektedir (19). Buna rağmen *M. bovis* 4 °C'deki sütte yaklaşık 2 ay, tahta yüzeylerde 20 gün, su içerisinde 17 gün canlılığını koruyabilir. Donmuş sperm içerisinde etken yıllarca canlı kalabilir. Genel dezenfeksiyon amacıyla formalin ve perasetik asitin uygun olduğu bulunmuştur (26).

### ***M. bovis* Enfeksiyonunun Epidemiyolojisi**

Klinik olarak sağlıklı hayvanlar, etkeni herhangi bir bulgu göstermeksizin burun, konjunktiva, ağız, bağırsak ve genital kanal mukozasında taşıyabilirler. Ayrıca keçilerin kulak kanalında bazı patojen mikoplazmalar bulunur (27). Pnömoni ve plöropnömoniyi içeren solunum yolu problemi mikoplazmaların memelilerde en sık oluşturduğu klinik belirtidir. Bunun dışında oküler ve genital problemler ile mastitise de neden olabilir (28). Etken *M. bovis*'ten ari sürülere suni tohumla sırasında dondurulmuş sperma ile bulaşabilir. Klinik olarak sağlıklı inekler etkeni sütleriyle yayarlar ve bu yol süt emen buzağılarda temel enfeksiyon kaynaklarından biridir (29).

Etken koyunlarda (30) ve keçilerde de (31, 32) enfeksiyon oluşturabilir ve bu hayvanlardan sığırlara bulaşabilir. Etkenin insanlardan da izole edildiği rapor edilmiştir ki (33) bu durum sığırlarla çalışan insanların da taşıyıcı olabileceklerini düşündürmektedir .

Etken temel olarak solunum kanalında bronkoalveolar bölgeye yerleşir ve öksürük ile damlacık enfeksiyonu tarzında çevreye yayılır. Kontamine toz parçacıkları da enfeksiyon kaynağı olabilir. Solunum sisteminde enfeksiyonun gelişimini takiben, hastalık sürü içerisinde hızla yayılır. Hastalıklı bir buzağı ile teması takiben etken 24 saat içerisinde hayvanların burun akıntılarında bulunur. Etkenin ilk izolasyonundan bir hafta sonra *M. bovis* sürüdeki hayvanların çoğundan izole edilebilir (34-36).

Buzağılarda eklemler etkenlerin kan yolu ile yayılması sonrası etkilenir. Bu durum genellikle sürüde enfeksiyonun yaygın olduğu durumlarda meydana gelir (37).

Meme enfeksiyonları genellikle etkenin meme başından girmesi sonrası gelişir. Meme enfeksiyonlarının gelişiminde stres faktörlerinin ve kötü bakımın etkili olduğu belirtilmiştir. Dolayısıyla *M. bovis*'e bağlı mastitisler genel olarak kötü bakım şartlarının bulunduğu büyük sürülerde görülmektedir (38) .

Erkek hayvanlarda genital sistemin enfeksiyonu kontamine ortamda bulunmakla ya da *M. bovis* enfeksiyonuna sahip hayvanlarla doğrudan temas sonrası gelişir. Prepusyumdan giren etken genital kanal boyunca ilerler. Bu şekilde erkek hayvanlarda

orşitis, vezikülitis gelişir; semen kalitesi düşer, etken semenle atılır (39). Dişi hayvanlarda genital kanal enfeksiyonu erkeklerdekine benzer şekilde asendens olarak gelişir (40, 41).

Çalışmalar enfekte inekten yavruya uterus veya daha sıklıkla süt yoluyla bulaşma şeklinde bir döngü bulunduğunu göstermiştir (34). Hastalık sırasında antikor titresi yüksektir. Düvelerde ise gebelik sırasında alınan hiçbir örnekten *M. bovis* izole edilemez. Ancak doğumdan sonra amnion sıvısı, endometrium ve fötustan etken izolasyonu mümkündür ki bu da vertikal bulaşmanın bir göstergesidir (36, 42, 43). İnekler, *M. bovis* tarafından oluşturulan mastitislere en çok doğum ve laktasyonun yoğun olduğu dönemlerde duyarlıdır.

### ***M. bovis* Enfeksiyonunun Patogenezisi ve Etkenin İmmunojenitesi**

Etkenin konağa girmede karmaşık yollar izlediği bilinse de, enfeksiyonun patogenezisi tam olarak anlaşılamamıştır. Patogenezisin ilk basamağı etkenin konak hücrelerine yapışmasıdır. PG45 suşu, adezyonun mekanizmasının anlaşılması için embriyonik sığır akciğer hücre kültüründe çalışılmıştır (44-46). Yapılan çalışmalar özel adezyon proteinleri, özellikle P26 proteininin, siyalik asit kalıntıları ve sülfatid gruplarının katılımıyla, bağlayıcı reseptör olarak spesifikliğini ve bu olayın kinetiğini göstermiştir (44). Bazı değişken yüzey lipoproteinlerinin de PG45 suşunun adezyonuna katıldığı gösterilmiştir (46). Vsps A, B, E ve F genlerinin tekrarlayan sekanslarından oluşan oligopeptidlerin bu tip adezyonu kısmen engelleme özelliği vardır. Vsp geni immunojenik epitopların kodlanmasında önemlidir. *M. bovis*'le yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda diğer mikoplazma türlerinden farklı olarak silialı trahea epiteline spesifik olarak bağlanmadığını göstermiştir (47).

*M. bovis*'in makrofajlar tarafından fagosite edilse dahi lizise direnç gösterdiği bilinmektedir (48). Etken bu fagositlerin yüzeyine tutunabilmekte ve burada çoğalabilmektedir (49). Makrofaj ve nötrofil hücre kültürlerine *M. bovis*'e karşı spesifik hiperimmün serum eklenmesiyle, etkenin sindirilebildiği ve yok edildiği gözlenmiştir (49, 50). Etkenin fagositozu nasıl engellediği tam olarak bilinmemektedir.

Epitel hücrelerinin yüzeyinde yerleşen *M. dispar*'dan farklı olarak, *M. bovis* trahea ve bronş epiteline de girer ve burada çoğalabilir (47). Etken, solunum epiteline penetre olarak, kendisine kalıcılık sağlar ve kronik enfeksiyonlarda konağın bağışıklık sisteminden kaçmış olur (47, 51). Etken dolaşım sistemine geçerek artritise de neden olur. Bu aşamada etken karaciğer ve böbrek gibi çeşitli organlardan izole edilebilir (52).

Etken akciğerlerde nekroz gelişimine sebep olur. Nekrozun gelişim mekanizması tam olarak ortaya konmuş olmasa da, etken tarafından oluşturulan kompleks polisakkarid yapıdaki bir toksinin ve etkene karşı gelişen şiddetli konakçı cevabının nekroz gelişiminde önemli olduğu düşünülmektedir (53-55).

*M. bovis*'in hücre zarında glukoz, glukozamin, galaktozamin ve bir heptozdan oluşan ve proteinlerle sıkıca bağlanmış, ısıya dayanıklı polisakkarit kompleksi vardır. Bu polisakkarit ekzotoksin gibi davranmasa da kılcal damar geçirgenliğini artırır ve komplement sistemini uyararak immun yanıtı tetikler. Bu mekanizma Gram (-) bakterilerin lipopolisakkaritlerinin mekanizmasına benzer (54). Aşılı hayvanlarda enfeksiyonun tekrar etmesi durumunda, lezyonların aşırı şekilde ortaya çıkması tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonu ve hücresel bağışıklıkla açıklanmaktadır (56).

*M. bovis*'in hem immunreaktif, hem de immun baskılayıcı olduğu gösterilmiştir. *M. bovis*'le inkube edilen alveolar makrofajların aktive olduğu ve TNF- $\alpha$  ve nitrik oksit salgıladığı gösterilmiştir (57). Etken nötrofil degranülasyonunu ve oksidatif radikal oluşumunu engelleyerek ve lenfositlerde mitojenler tarafından oluşturulan proliferasyonu durdurarak immun baskılayıcı özellik gösterir (48, 58, 59). Etkenin *in vitro* ortamda lenfositlerde apoptozisi uyardığı gösterilmiştir (60). Yine *in vitro* ortamda antijene maruz bırakıldığında CD4+ T hücreleri ile daha az oranda CD8+ T hücrelerinin aktive oldukları çalışmalarla ortaya konmuştur (61).

*M. bovis* antijenik yapısını hızla değiştirebilme yeteneğine sahiptir ki bu özelliği ticari olarak tanı testlerinin üretimi ve koruyucu aşı üretiminde çeşitli sorunlar yaratır (62). Bu antijenik yapıyı değiştirme kabiliyetinde, lipoprotein olan yüzey antijeni sentezinden sorumlu olan Vsp geni rol oynar (62-64). Vsp genleri, *M. bovis* etkenine konak hücrelerine tutunmada, konağın bağışıklık sisteminden kaçmada ve konak ile çevredeki değişik durumlara uyum sağlamada yardımcı olur (52).

### ***M. bovis* Enfeksiyonunda Klinik Bulgular**

*M. bovis* sıklıkla diğer patojen mikroorganizmalarla (BRSV, PI-3 virusu, sığır adenovirusları, BVD virusu, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Actinobacillus pyogenes*, *Histophilus somni*, *M. dispar*, *M. canis* ve *Ureaplasma diversum*) birlikte hastalık oluşturabilir (65). Çeşitli stres faktörlerine bağlı olarak Bovine Respiratory Disease Complex (BRDC veya shipping fever) gelişmesinden 7-14 gün sonra mycoplasmosis şekillenebilir (66). *M. bovis* çeşitli solunum yolu semptomlarına neden olur, ancak bunlar spesifik değildir. Ateş, iştah kaybı, depresyon, hiperventilasyon, dispne,

burun akıntısı, öksürük gibi klinik bulgular beş günlük genç buzağılarda bile oluşabilir (36).

Deneysel olarak etkenin eklem içi, damar içi veya bronş içine inokulasyonu buzağılarda şiddetli poliartritise neden olabilir. Artritis bazen ergin sığırlarda da gözlenir (67). Doğal enfeksiyonlarda artritis genel olarak tarsal ve karpal eklemlerde rastlansa da diğer eklemler de etkilenebilir. Sığırlarda bir veya birden fazla eklemde etkilenmesiyle topallık meydana gelir. Eklemdeki şişkinlik kapsül ve çevre dokulardaki yangıya bağlı oluşur (66). Makroskopik olarak eklem boşluğunda fibrinopurulent eksudatın varlığı, fibrinopurulent sinovitis veya tenosinovitis görülür. Eklem kırırdağında erozyonlara ve polipoid granülasyon dokusuna rastlanabilir (68).

Deneysel olarak az sayıdaki *M. bovis*'in meme içi inokulasyonu bile şiddetli mastitise neden olduğu gösterilmiştir (69). Mastitisli sürülerde en sık izole edilen mikoplazma türü *M. bovis*'tir (70). Süt sığırı sürülerinde hastalık sporadik seyirlidir ancak bulaşma hızlı olur (71). Etkene bağlı mastitisler kışın daha sıklıkla görülür (72-74). Birden fazla meme lobunun etkilendiği vakalarda süt genellikle seropurulent özelliktedir. Mastitis genellikle süt veriminin azalması dışında herhangi bir sistemik klinik bulguya sebep olmaz (52, 71).

Doğal enfekte vakalarda nadiren genital enfeksiyon ve abort görülebilir (75). Semen *M. bovis* ile bulaşık olması semenin kalitesini ve fertilitatesini etkiler (76, 77).

### ***M. bovis* Enfeksiyonunun Tanısı**

Etkenin izolasyonu için burun, göz, genital kanal ve kulaktan svab, taze süt, sinoviyal sıvı, bronkoalveoler lavaj sıvısı örnek olarak alınabilir. Nekropsi materyali olarak alınan akciğer dokusu, lenf yumruları ve plöra sıvısından etkeni izole etmek mümkündür (78, 79). Tanıyı etkenin izolasyonu ve identifikasyonu yoluyla, ELISA, PCR, SDS-PAGE, Western Blot gibi yöntemlerle ve immunohistokimya ile ortaya koymak mümkündür (80-82).

### ***M. bovis* Pnömonileri**

*M. bovis* pnömonileri dört ana başlıkta ele alınabilir. Bunlar kazeonekrotik bronkopnömoni, koagülasyon nekrozunun olduğu bronkopnömoni, nekrozun olmadığı supuratif bronkopnömoni ve apse oluşumunun bulunduğu kronik bronkopnömoni tipleridir. Kazeonekrotik bronkopnömonilerde kranial ve medial akciğer lobları daha çok etkilenirler. Akciğerin etkilenmiş alanlarında kazeöz nekroz içeren nodüller bulunur ve

genelde konsolide akciğer dokusu bu alanlara komşudur. Kazeonekrotik nodüllerin büyüklüğü birkaç mm'den birkaç cm çapa kadar ulaşabilir. Genellikle bu tipteki nodüller dairesel şekilde, beyaz renkli, kuru ve kolayca parçalanabilen ve plöral yüzeyden dışarı taşmış nodüler tipte lezyonlardır (51, 83-85). Kazeoz lezyonlar zamanla sekestre olup tüm loba yayılabildiği gibi bronşiektazi şekillendirebilmektedir (51, 84). Özellikle diğer bakteriler ile koenfeksiyonun şekillendiği olaylarda bu kazeoz nekroz alanları kuru parçalanabilir materyal yerine sıvı, irin ile dolu bir yapı haline gelebilir (86). Histolojik olarak kazeoz nekroz küçük bronşiyollerden, alveollerden veya interlobar intersitisyel dokudan başlayabilir. Erken lezyonlarda alveol ve bronşiyollerin lümeni nötrofiller ile doludur, zamanla bu hücreler nekroza uğrayıp sitoplazmalarında hipereozinofili gözlenir. Hücresel sınırlar nekroze olmasına rağmen seçilebilmektedir. İleri olgularda bu eozinofilik materyal bir pıhtı oluşturur. Pıhtının periferi nekrotik lökositler, makrofaj, lenfosit ve bağ doku hücreleri ile sarılabilir (51, 83-85). Bu infiltrate olabilen hücreler CD4, CD8 pozitif T hücreleri ve immunglobulin G üreten plazma hücrelerinden oluşmaktadır (87). Koagülasyon nekrozunda düzensiz şekilli, ten renginde, kolay parçalanmayan nekroz odakları ile bu alanlarda hayali olarak şekilleri belli olan alveol ve bronşiyoller görülür. Akciğerde şekillenen apselerde ise kazeifikasyon nekrozundan farklı olarak akışkan kıvamlı irin bulunur (88).

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Hayvan Materyali

Çalışmada kullanılan akciğer dokuları 2008 yılının Ocak-Nisan ayları arasında Bursa ili ve çevresinde bulunan mezbahalara bizzat gidilerek sağlandı. Yaş, cinsiyet ve ırk ayırımı yapılmadan toplam 1413 hayvanın akciğerleri (Tablo 1) incelendi ve bu hayvanların 136'sında (% 9,63) renk, kıvam ve kesit yüzünde gözlenen patolojik değişiklikler göz önünde bulundurularak pnömoni odağı olduğundan şüphe edilen akciğer loblarından, her lobdan bir örnek olacak şekilde, toplam 271 örnek alındı. Bu vakalara ilave olarak bu dönemde Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına gelen 10 vaka da çalışmaya dahil edildi. Mezbahalardan elde edilen örneklerde hayvanların ırkı, yaşı, cinsiyeti ve geldikleri yerler hakkındaki bilgiler toplanmadı.

**Tablo-1** Araştırma materyalinin kaynaklara göre dağılımı

Materyal Kaynağı	İncelenen Akciğer Sayısı	Lezyonlu Akciğer Sayısı
Et-Ba Et Kombinasyonu	807	84
Kayalar Et Kombinasyonu	475	42
Çim-Et Et Kombinasyonu	118	8
Çalı Belediye Mezbahası	13	2
Anabilim Dalı Laboratuvarı	10	10
<b>Toplam</b>	<b>1423</b>	<b>146</b>

### Dokuların İşlenmesi

Mezbahalardan alınan akciğer örnekleri % 10'luk tamponlu formaldehit içerisinde anabilim dalı laboratuvarına getirilerek burada trimleri yapıldı. Trimlenen dokular kasetlere alındı ve % 10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda 48 saat tespite bırakıldı. Tespit sonrası dokular bir gece akar suda yıkandıktan sonra birer saat 70°, 80°, 90° ve 100°'lik alkolde dokuların suyu giderildi. Ksilol 1 ve 2 solüsyonlarında birer saat bekletildikten sonra kasetler 56 °C'ye ısıtılmış etüvdeki parafin 1 ve 2'de birer saat tutuldu ve ardından bloklama işlemi yapıldı. Bloklanan dokulardan RM 2155 model mikrotomda (Leica, Wetzlar, Almanya) 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve lama çekildi.

### **Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi**

Lamlar köprüye yerleştirildikten sonra sırası ile 3'er dakika süre ile seri halde 3 kez ksilolde bekletilerek parafin uzaklaştırıldı. Lamlar 3'er dakika süre ile 100°, 90°, 80° ve 70°'lik alkollerde rehidre edildi. Distile suda yıkandıktan sonra, 10 dakika Harris hematoksilende (Merck, New Jersey, NJ, ABD) hücre çekirdeklerinin mor renk alması sağlandı. Akarsuda yıkanarak hematoksilenin fazlası uzaklaştırıldıktan sonra, lamlar 10'ar saniye asit alkol ve amonyaklı sudan geçirilerek dokular mavileştirildi. Lamlar eozinde (Merck) 5 dakika bekletilerek hücre sitoplazmalarının pembe renk alması sağlandı. Daha sonra lamlar akarsuda yıkanarak eozinin fazlası uzaklaştırıldı. Preparatlar 70°'lik alkolde 5 saniye, 80° ve 90°'lik alkolde 1'er dakika ve iki ayrı 100°'lik alkolde 3'er dakika bekletildikten sonra havada kurutuldu. Kuruyan preparatlar 3'er dakika süre ile seri halde 3 kez ksilolden geçirilerek parlatıldıktan sonra, lamların üzerine Entellan (Merck) damlatılarak dokular lamel ile kapatıldı.

### **Hematoksilen-Eozin Boyama Sonuçları için Değerlendirme Kriterleri**

Pnömonilerin sınıflandırılması esnasında temel olarak eksudatın tipine ve lezyonun akciğer dokusu içerisindeki dağılımına bakıldı. Ayrıca nekroz olup olmadığı, varsa tipi, kireçlenme şekillenip şekillenmediği, bağ doku üremesi varsa bunun yerleşimi, dev hücrelerinin ve sinsitiyal hücrelerin bulunup bulunmadığı, amfizem ve atelektazi şekillenip şekillenmediği, pnömosit II bulunup bulunmadığı gibi değişiklikler incelendi. Pnömonilerin şiddetlerinin değerlendirilmesinde alınan kesitte etkilenen alanın genişliği ve yangı hücrelerinin infiltrasyon şiddeti esas alındı ve daha önce yapılan bir çalışmadakine benzer bir derecelendirme kullanıldı (53). Buna göre etkilenen akciğer alanının hesaplanmasında toplam kesit sahasında % 1-25 etkilenme durumunda 1, % 26-50 etkilenme durumunda 2, % 51-75 etkilenme durumunda 3, % 75'ten fazla etkilenme durumunda ise 4 şeklinde derecelendirme yapıldı. Toplam yangı hücresi infiltrasyonunun şiddetinin hesaplanmasında kesitte x400 büyütmede gelişigüzel 5 alan seçilerek bu alanlardaki yangı hücreleri sayıldı. Hücre sayısına göre 1-15 hücre: 1, 16-30 hücre: 2, 31-45 hücre: 3 ve >45 hücre olanlar 4 şeklinde skorlandı. Toplam pnömoni şiddetinin belirlenmesinde etkilenen alana yönelik skorla, yangı hücresi yoğunluğuna yönelik skor toplanarak, elde edilen değer kullanıldı. Birden fazla lobdan örnek alınan durumlarda, en şiddetli pnömoni bulguları gösteren kesitler incelendi. Pnömonilerin eksudat bakımından yapılan değerlendirmesinde intersitisyel dokuda, alveol lümenlerinde ve yer yer de bronş



ve bronşiyol lümenleri içerisinde fibrin gözlenen vakalar fibrinli olarak değerlendirilirken, çok sayıda nötrofil lökosit görülen vakalar purulent; yangı hücresi olarak nötrofillerin bulunmadığı ya da çok azınlıkta kaldığı, lenfosit, plazma hücresi ve makrofajların görüldüğü olaylar ise non-purulent olarak isimlendirildi. Yaygın nekroz alanlarının görüldüğü olaylar nekrotik olarak kabul edilirken; sağlam ve dejenere nötrofil lökositlerden oluşan bir merkez ve bu merkezi çevreleyen lenfosit, plazma hücresi ve makrofajlar ile bağdoku gelişimi olan olaylar piyogranümatöz olarak değerlendirildi. Yangı hücresi olarak daha çok lenfosit ve plazma hücrelerinin yer aldığı, bağ doku oluşumunun sınırlı olduğu olaylar subakut olarak isimlendirilirken; lenfosit, plazma hücresi, makrofajların yanısıra, belirgin bağ doku oluşumunun gözlemlendiği olaylar kronik; her iki türde de değişikliğin olduğu olaylar ise subakut-kronik olarak değerlendirildi.

### **Ziehl-Neelsen Boyama Yöntemi**

Alınan örneklerde tüberküloz olasılığını ortadan kaldırmak amacıyla *M. bovis* pozitif tüm vakalara ait kesitler Ziehl-Neelsen metodu ile boyandı (89). Pozitif kontrol olarak anabilim dalına daha önce gelen ve paratüberküloz teşhisi konmuş bir keçiye ait mezenteriyel lenf yumrusu dokusu kullanıldı. Boyama sonrası kesitler mikroskopta incelenerek asidorezistans bakterilerin bulunup bulunmadığı araştırıldı.

### **Mikrobiyolojik İnceleme**

Çalışmanın mikrobiyolojik incelemeleri Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında aşağıda özetlendiği şekilde yapıldı:

Histopatolojik ve immunohistokimyasal inceleme için örnek alınan akciğer loblarından mikrobiyolojik ekimler için de örnekler alınarak buz kalıpları içerisinde laboratuvara ulaştırıldı. Örnekler daha sonra bakteriyolojik olarak incelenmek üzere -20 °C'de derin dondurucuda muhafaza edildi. Mikrobiyolojik ekimler için laboratuvara getirilen akciğer örnekleri derin dondurucudan çıkarılarak 10'lu gruplar halinde çalışıldı. Bu amaçla akciğer doku parçaları (birden fazla akciğer lobundan örnek alındıysa her lobdan ayrı parçalar) içerisinde 5 ml PPLO broth bulunan steril homojenat tüpünün içerisine atıldı ve ultraturaksta homojenize edildikten sonra Mycoplasma selektif agar (MSA) ve Mycoplasma selektif broth (MSB) besiyerlerine ekim yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri 37 °C'de, % 5 CO<sub>2</sub>'li ve nemli ortamda inkübe edildi. MSB üreme özellikleri yönünden her gün kontrol edildi; MSA 2-3 günde bir stereomikroskop altında tipik sahanda yumurta görünümlü kolonilerin varlığı yönünden incelendi. Ekim yapılan

besiyerinde üreme belirtisi varsa hemen pasajı yapıldı. Üreme belirtisi görülmeyen besiyerlerinden ise 7 gün ara ile kör pasaj yapıldı. Daha sonra üreyen koloniler klonlandı ve inkübe edildi. Son inkübasyondan sonra seçilen tek kolonilerden üç kez klonlandıktan sonra incelendiğinde orijinal morfolojisini koruyan koloniler *Mycoplasma* spp. olarak değerlendirildi. Saf kültürü hazırlanan ve *Mycoplasma* spp. olarak değerlendirilen izolatların biyokimyasal testler ve üreme inhibisyon testleri ile identifikasyonları gerçekleştirildi. Bu amaçla digitonin sensitivitesi, glukoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, fosfataz aktivitesi, tetrazolium redüksiyonu ve üreme inhibisyon testi yapıldı; etkenlerin film ve spot oluşumu özellikleri incelendi. Testlerde standard *M. bovis* suşu olarak Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan *M. bovis* NCTC 10131 suşu kullanıldı.

### İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi

Bloklanan dokulardan 5 µm kalınlığında kesilen dokular poli-l-lizinli (Sigma-Aldrich Corp, St. Louis, MO, ABD) lamlara alındıktan sonra immunohistokimyasal boyamalar yapıldı. İmmunohistokimyasal boyamalar için kullanılan primer antikolarla sekonder antikorun isimleri, üreticileri, ürün kodları ve sulandırma oranları Tablo 2'de verilmektedir.

**Tablo-2** İmmunohistokimyasal boyamalar için kullanılan primer antikoların ve sekonder antikorun isimleri, üreticileri, ürün kodları ve sulandırma oranları

Antikorun ismi	Üreticisi, Kodu	Sulandırma oranı
Rabbit anti- <i>Mycoplasma bovis</i> (poliklonal)	Dr. Enrico Radaelli (Milano Veteriner Fakültesi, İtalya)	1:10.000
Rabbit anti-human CD3 (monoklonal)	Lab Vision (Fremont, CA, ABD) RM-9107-S0	1:150
Mouse anti-human CD79 $\alpha$ cy (monoklonal)	DAKO (Glostrup, Danimarka) M7051	1:50
Rabbit anti-human kappa light chains (poliklonal)	DAKO A0191	1:10.000
Rabbit anti-human lambda light chains (poliklonal)	DAKO A0193	1:10.000
Biotinylated goat anti-polyvalent antibody (poliklonal)	Lab Vision TP-125-BN	-

Etkeni immunohistokimyasal olarak ortaya koymaya yönelik olarak yapılan boyamalarda pozitif kontrol olarak Dr. Enrico Radaelli (Milano Veteriner Fakültesi, İtalya) tarafından sağlanan akciğer dokusu kullanıldı. Gelişen yangısal cevabın ölçülmesi amacıyla yapılan boyamalarda CD3 antikoruna T hücrelerinin, CD79 antikoruna B hücrelerinin ve kappa hafif zincirleri ile lambda hafif zincirleri antikorları plazma hücrelerinin gösterilmesi amacıyla kullanıldı. Yangı hücrelerini göstermek için yapılan immunohistokimyasal boyamalarda pozitif kontrol olarak sığır mediastinal lenf yumrusu seçildi. Negatif kontrol olarak primer antikor eklenmemiş antikor sulandırma solüsyonu kullanıldı.

İmmunohistokimyasal boyamalar için streptavidin-biotin-peroksidaz yöntemi kullanıldı ve aşağıda açıklanan işlemler yapıldı:

**1-** Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm'lik kesitler poli-l-lizinli (Sigma-Aldrich) lama çekildi.

**2-** Deparafinizasyon işlemi için kesitler 2 defa 10'ar dakika süre ile ksilolden geçirildikten sonra, 100°'lik alkolde 5 dakika x 2, 90°, 80° ve 70°'lik alkollerde 5'er dakika süre ile rehidre edildi. Ardından dokular 5 dakika distile su içerisinde yıkandı.

**3-** Endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için lamlar nemli odacığa alınıp % 3'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulandı. Ardından dokular 5'er dakika süre ile 2 defa PBS ile yıkandı.

**4-** Sitratlı tampon çözeltisi (pH 6.0) içerisinde dokulara antijen açığa çıkarma işlemi uygulandı.

**5-** Lamlar tampon çözeltisi içerisinde oda ısısına gelene kadar bekletildi. Ardından dokular 5'er dakika süre ile 2 defa PBS ile yıkandı.

**6-** Protein bloklama solüsyonu (Large Volume Ultra V Block, TA-125-UB; Lab Vision) dokuların üzerini kapatacak şekilde eklendi ve 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.

**7-** Protein bloklama solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra yıkama işlemi yapılmaksızın lamların üstüne uygun oranda sulandırılmış (Large Volume Ultra Ab Diluent, TA-125-UD; Lab Vision) primer antikor konularak dokular inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben primer antikor uzaklaştırıldı ve lamlar 5'er dakika süre ile 2 defa PBS ile yıkandı.

**8-** Sekonder antikor dokuların üzerini kapatacak şekilde uygulandı ve 30 dakika oda ısısında inkübe edildi. Ardından lamlar 5'er dakika süre ile 2 defa PBS ile yıkandı.

9- Lamlar üzerine streptavidin-peroksidaz (TS-125-HR; Labvision) eklendi ve 30 dakika oda ısısında inkübe edildi. Ardından lamlar 5'er dakika süre ile 2 defa PBS ile yıkandı.

10- Lamlar üzerine kromojen olarak diaminobenzidine (DAB, TA-012-HDC ve DAB substrate buffer, TA-125-HDS; Lab Vision) uygulandı. Ardından lamlar akar suda 5 dakika yıkandı.

11- Harris hematoksilende (Merck) çekirdekler mavileşinceye kadar karşı boyama yapıldıktan sonra lamlar akar suda 5 dakika yıkandı.

12- Lamlar 5'er dakika süre ile 70°, 80° ve 90°'lik alkol ve 5 dakika x 2 defa 100°'lik alkolden ve 10 dakika x 2 defa ksilolden geçirildikten sonra dokular Entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı.

Tüm yıkamalar esnasında dokuları taşıyan şaleler OS20 model orbital karıştırıcı (Biosan, İstanbul) üzerine yerleştirildi. Aksi belirtilmediği sürece tüm işlemler oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Farklı antikolar ile boyamalar arasında çeşitli basamaklarda gerçekleştirilen farklı uygulamalar Tablo 3'te gösterilmiştir.

**Tablo-3** İmmunohistokimyasal boyama protokolündeki farklılıklar

	<i>M. bovis</i>	CD3	CD79	Kappa hafif zincirleri	Lambda hafif zincirleri
<b>Antijen açığa çıkarma işlemi (antigen retrieval)</b>	20 dakika, 95 watt, mikrodalga	20 dakika, 120 °C, 1 atm, otoklav	15 dakika, 600 watt, mikrodalga	10 dakika, 600 watt, mikrodalga	15 dakika, 600 watt, mikrodalga
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması</b>	Antijen açığa çıkarmadan önce 15 dakika	Antijen açığa çıkarmadan sonra 30 dakika	Antijen açığa çıkarmadan sonra 30 dakika	Antijen açığa çıkarmadan sonra 30 dakika	Antijen açığa çıkarmadan sonra 30 dakika
<b>Primer antikor uygulama süresi ve sıcaklığı</b>	38 dakika, 37 °C	1 saat, oda ısısında	1 saat, oda ısısında	20 dakika, oda ısısında	30 dakika, oda ısısında
<b>DAB kromojen uygulama süresi</b>	3 dakika	10 dakika	10 dakika	5 dakika	10 dakika

### İmmunohistokimyasal Boyama Sonuçları için Değerlendirme Kriterleri

CD3, CD79, kappa hafif zincirleri ve lambda hafif zincirleri antikoları ile boyanmış olan kesitlerde yangı hücresi skorlarının belirlenmesinde yukarıda hematoksil-eozin ile boyanmış olan kesitlerin incelenmesi kısmında anlatıldığı şekilde bir skorlama

yapıldı. Anti-*M. bovis* antikorunu ile yapılan boyamalarda etkenin akciğer dokusu içerisindeki yerleşimine bakıldı (53).

### **Preparatların İncelenmesi**

Tüm mikroskopik incelemeler ve fotoğraf çekimleri U-D03 model Olympus marka mikroskopta (Tokyo, Japonya) gerçekleştirildi. İncelemeler esnasında araştırmacı hangi hayvana ait dokuyu incelediğini ve hangi boyamaya baktığını bilmiyordu.

### **İstatistiksel Değerlendirme**

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı, Biyoistatistik Bilim Dalında SPSS 13.0 (Chicago, IL, ABD) programı kullanılarak yapıldı.

Analizlerde sürekli değişkenler için ortalama  $\pm$  standard sapma değerleri hesaplandı. İki'den fazla grup olan karşılaştırmalarda non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Gruplar arasında fark bulunduğunda, bu farkın hangi gruptan kaynaklandığını bulabilmek amacıyla Mann-Whitney U testi uygulandı. Kategorik değişkenler için gruplar arasındaki farkların bulunması amacıyla Pearson'ın ki-kare testi yapıldı. İstatistiksel önem derecesi olarak  $p < 0,05$  kabul edildi.

## BULGULAR

### *M. bovis* Pnömonilerinin Yaygınlığı

Çalışmada Bursa ili ve çevresinde yer alan mezbahalarda kesilen toplam 1413 hayvanın akciğerleri incelendi ve bu hayvanların 136'sında (% 9,63) pnömoniye yönelik bulgular gözlenerek örnek alındı. Yine Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirilen ve pnömoni bulguları gösteren 10 akciğer dokusu da çalışmada incelendi. Alınan akciğer dokularında *M. bovis*'in saptanması amacıyla mikrobiyolojik ekim ve immunohistokimyasal boyamalar yapıldı. Toplam 39 hayvanda *M. bovis* pnömoni sebebi olarak ortaya kondu. Böylece Bursa ili ve çevresindeki mezbahalarda kesilen ya da Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirilen ve pnömoni bulguları gösteren hayvanlarda *M. bovis*'in yaygınlık oranı % 26,71 olarak tespit edildi. *M. bovis* (+) ve *M. bovis* (-) hayvanlarda etkilenen akciğer loblarının (Şekil-1A) sayısı ve yüzdeleri Tablo 4'te görülmektedir.

**Tablo-4** *M. bovis* (+) ve *M. bovis* (-) hayvanlarda etkilenen akciğer loblarının sayısı ve yüzdesi

Loblar	<i>M. bovis</i> (+) hayvanlar (n=39)		<i>M. bovis</i> (-) hayvanlar (n=107)	
	Hayvan sayısı	% (x/39)	Hayvan sayısı	% (x/107)
Pars cranialis dextra	22	56,41	65	60,75
Pars caudalis dextra	15	38,46	35	32,71
Pars medialis dextra	14	35,90	25	23,36
Caudalis dextra	12	30,77	27	25,23
Lobus accessorius	13	33,33	26	24,30
Pars cranialis sinistra	19	48,72	36	33,64
Pars caudalis sinistra	19	48,72	42	39,25
Caudalis sinistra	12	30,77	26	24,30

p > 0,05

*M. bovis* (+) hayvanlarda en sık olarak etkilenen akciğer lobunun sağ kranial lobun pars kranialisi (pars cranialis dextra) olduğu, bunu sol kranial lobun pars kranialis (pars cranialis sinistra) ve pars kaudalisinin (pars caudalis sinistra) takip ettiği gözlemlendi. Sağ

kranial lobun pars kranialis (pars cranialis dextra) *M. bovis* (-) hayvanlarda da en sık olarak etkilenen akciğer lobuydu. Ancak yapılan istatistiksel analizde etkilenme bakımından loblar arasında belirgin fark gözlenmedi ( $p > 0,05$ ).

### **Makroskobik Bulgular**

Etkilenen akciğer loblarında mermer manzarası görünümünde konsolidasyon sahaları ile grimsi krem renkte, multifokal nekroz alanları görüldü (Şekil-1B). Bu nekroz alanları yer yer sert kıvamdaydı ve nodüler yapı göstermekteydi. Nekrozun özellikle bronş ve bronşiyoller etrafındaki akciğer bölgelerini etkilemiş olduğu dikkati çekti. Nekroz alanlarının kesit yüzlerinde bağ dokudan kapsül ile çevrelenmiş nekrotik-irinli bölgeler veya koagülasyon nekrozları gözlemlendi. Bronş ve bronşiyol lümenlerinde yer yer irinli eksudat ile karşılaşıldı.

### **Histopatolojik Bulgular**

*M. bovis* pozitif hayvanların akciğerlerinden alınan doku örneklerinin ışık mikroskopik inceleme sonuçları özet olarak Tablo 5’te verilmektedir. Pnömoniler eksudat yapısı ve etkilenen kısımlar yönünden incelendiğinde toplamda 7 grupta sınıflandırılmışlardır. Bu gruplar ve bu gruplara giren hayvan sayıları aşağıdaki şekildedir:

**1. Fibrinopurulent bronkopnömoni** (10 hayvan): Purulent bronkopnömoniyeye benzemekle beraber alveoller içerisinde yoğun şekilde fibrin birikimleri gözlemlendi (Şekil-1C). Bu vakalarda lenfatik damarlar içerisinde fibrin tıkaçlarının şekillenmiş olması dikkate değer bir bulguydu (Şekil-1D). Bronş ve bronşiyol epitellerinde dökülme ve lümen içerisinde dökülmüş epitel hücreleri ile nötrofil, lenfosit, plazma hücresi ve makrofajlardan oluşan yangısal eksudatın yer aldığı dikkati çekti (Şekil-1E).

**2. Non-purulent bronkointersitisyel pnömoni** (6 hayvan): Bronş, bronşiyol submukozaları ile intersitisyel doku içerisinde mononükleer hücreler (lenfositler, plazma hücreleri ve makrofajlar) gözlemlendi (Şekil-1F). BALT’in hiperplaziye uğradığı ve bronş-bronşiyol lümenlerinin daralmış olduğu görüldü. Bronş ve bronşiyol epitellerinde dökülme ve lümen içerisinde dökülmüş epitel hücreleri ile lenfositler, plazma hücreleri ve makrofajlardan oluşan yangı hücrelerinin yer aldığı dikkati çekti (Şekil-2A).

**3. Non-purulent bronkopnömoni** (3 hayvan): Bronş ve bronşiyol submukozası ile bronş, bronşiyol ve alveol lümenleri içerisinde lenfosit, plazma hücreleri ve makrofajlardan oluşan yangı hücrelerinin varlığı, bronş ve alveol epitellerinde yer yer dökülmeler ile BALT hiperplazisi dikkati çekti.

**4. Purulent bronkopnömoni** (5 hayvan): Bronş, bronşiyol submukozası ile alveol lümenleri içerisinde çok sayıda sağlam ya da dejenere olmuş nötrofil lökositin varlığı ile karakterizeydi. Yer yer BALT hiperplazisi görüldü.

**5. Nekrotik-purulent bronkopnömoni** (5 hayvan): Akciğer dokusu içerisinde yer yer yaygın nekroz alanları ile bazı bölgelerde bronş, bronşiyol ve alveol epitellerinde dökülmeler gözlemlendi. Bronş, bronşiyol ve alveol lümenleri içerisinde çok sayıda nötrofil lökositin varlığı dikkati çekti.

**6. Nekrotik-fibrinopurulent bronkopnömoni** (6 hayvan): Nekrotik-purulent bronkopnömoniden farklı olarak özellikle alveoller içerisinde belirgin fibrin çıkışları gözlemlendi. Bazı lenf damarlarında fibrin tıkaçlarının şekillenmiş olduğu dikkati çekti.

**7. Piyogranümatöz bronkopnömoni** (4 hayvan): Akciğer dokusu içerisinde yer yer piyogranümatöz odakların varlığı dikkati çekti (Şekil-2B). Bu odakların çevresinde kalan bölgelerde nötrofil, lenfosit, plazma hücresi ve makrofajlardan oluşan yangı hücrelerinin bulunduğu görüldü. Bronş, bronşiyol ve alveol epitellerinde yer yer dökülmeler gözlemlendi.

Yukarıdaki bu bulgulara ilave olarak hemen hemen tüm vakalarda akciğerlerde değişen derecelerde amfizem ve atelektazi alanları gözlemlendi. Kronik vakalarda intersitisyel bölgelerde bağ doku oranının artmış olduğu gözlemlendi. Dökülen bazı alveol epitellerinin yerlerinde tip II pnömositlerin üremesi tarzında iyileşme faaliyetlerinin başlamış olduğu gözlemlendi. Bazı alveoller içerisinde sinsitiyal hücreler (Şekil-2C) ile alveolar makrofajların (Şekil-2D) varlığı dikkati çekti. Şiddetli eksudasyonun olduğu bazı vakalarda bronşiyol lümenleri nekrotik eksudat ile tamamen dolmuştu (bronşiyolitis obliterans).

*M. bovis* pnömonili hayvanların 18'inde akciğerlerde nekrotik alanların varlığı gözlemlendi. Bu olayların 11'inde nekroz kazeifikasyon (Şekil-2E) tarzındayken, 7 vakada koagülasyon nekrozunun (Şekil-2F) varlığı dikkati çekti. Kazeifikasyon nekrozu şekillenmiş olan hayvanlardan 4'ünde nekrotik alan içerisinde kalsifikasyon (Şekil-2E) geliştiği görüldü.

### **Farklı Pnömoni Tipleri-Pnömoni Şiddeti Arasındaki İlişki**

Farklı tipteki pnömonilerde ortalama pnömoni şiddetleri şu oranlarda bulundu: Non-purulent bronkointersitisyel pnömoni ( $4,00 \pm 1,55$ ), piyogranümatöz bronkopnömoni ( $6,00 \pm 1,41$ ), fibrinopurulent bronkopnömoni ( $6,30 \pm 1,42$ ), nekrotik-purulent bronkopnömoni ( $6,80 \pm 1,30$ ), purulent bronkopnömoni ( $7,00 \pm 1,00$ ), nekrotik-



**Tablo-5** *M. bovis* (+) hayvanlarda pnömoninin tipi (ve şiddeti), nekroz ve kalsifikasyon durumu

No	Pnömoni tipi (ve şiddeti*)	Nekroz (+kalsifikasyon)
1	Non-purulent bronkointersitisyel pnömoni (1, 2)	-
2	Piyogranüloamatöz bronkopnömoni (2, 3)	Kazeifikasyon
3	Fibrinopurulent bronkopnömoni (3, 4)	-
4	Non-purulent bronkointersitisyel pnömoni (1, 2)	-
5	Nekrotik-purulent bronkopnömoni (2, 3)	Kazeifikasyon+kalsifikasyon
6	Nekrotik-purulent bronkopnömoni (4, 4)	Kazeifikasyon+kalsifikasyon
7	Piyogranüloamatöz bronkopnömoni (2, 4)	Kazeifikasyon
8	Purulent bronkopnömoni (3, 3)	Kazeifikasyon
9	Fibrinopurulent bronkopnömoni (3, 4)	Koagulasyon
10	Piyogranüloamatöz bronkopnömoni (4, 4)	Kazeifikasyon
11	Purulent bronkopnömoni (4, 4)	-
12	Non-purulent bronkointersitisyel pnömoni (3, 3)	Kazeifikasyon
13	Fibrinopurulent bronkopnömoni (3, 4)	-
14	Fibrinopurulent bronkopnömoni (3, 3)	-
15	Fibrinopurulent bronkopnömoni (3, 4)	-
16	Non-purulent bronkointersitisyel pnömoni (1, 2)	-
17	Nekrotik-fibrinopurulent bronkopnömoni (3, 4)	Kazeifikasyon
18	Fibrinopurulent bronkopnömoni (4, 4)	-
19	Non-purulent bronkopnömoni (2, 3)	-
20	Nekrotik-fibrinopurulent bronkopnömoni (4, 4)	Koagulasyon
21	Non-purulent bronkopnömoni (2, 1)	-
22	Piyogranüloamatöz bronkopnömoni (2, 3)	Kazeifikasyon+kalsifikasyon
23	Fibrinopurulent bronkopnömoni (3, 3)	-
24	Non-purulent bronkopnömoni (1, 1)	-
25	Nekrotik-fibrinopurulent bronkopnömoni (4, 3)	-
26	Nekrotik-purulent bronkopnömoni (3, 4)	Kazeifikasyon+kalsifikasyon

27	Nekrotik-purulent bronkopnömoni (4, 4)	Koagulasyon
28	Nekrotik-fibrinopurulent bronkopnömoni (3, 4)	Kazeifikasyon
29	Purulent bronkopnömoni (3, 4)	Koagulasyon
30	Purulent bronkopnömoni (3, 3)	-
31	Purulent bronkopnömoni (4, 4)	-
32	Non-purulent bronkointersitisyel pnömoni (3, 3)	-
33	Fibrinopurulent bronkopnömoni (3, 4)	-
34	Fibrinopurulent bronkopnömoni (1, 2)	-
35	Non-purulent bronkointersitisyel pnömoni (1, 2)	-
36	Fibrinopurulent bronkopnömoni (2, 3)	Koagulasyon
37	Nekrotik-fibrinopurulent bronkopnömoni (4, 4)	Koagulasyon
38	Nekrotik-fibrinopurulent bronkopnömoni (4, 4)	-
39	Nekrotik-purulent bronkopnömoni (4, 2)	Koagulasyon

\*Parantez içerisindeki ilk rakam toplam kesitte etkilenen alan oranına göre 1-4 arası derecelendirmeyi, ikinci rakam ise yangı hücreleri sayısına göre 1-4 arası derecelendirmeyi göstermektedir. Toplam pnömoni şiddeti bu iki rakamın toplanması ile elde edilmiştir.

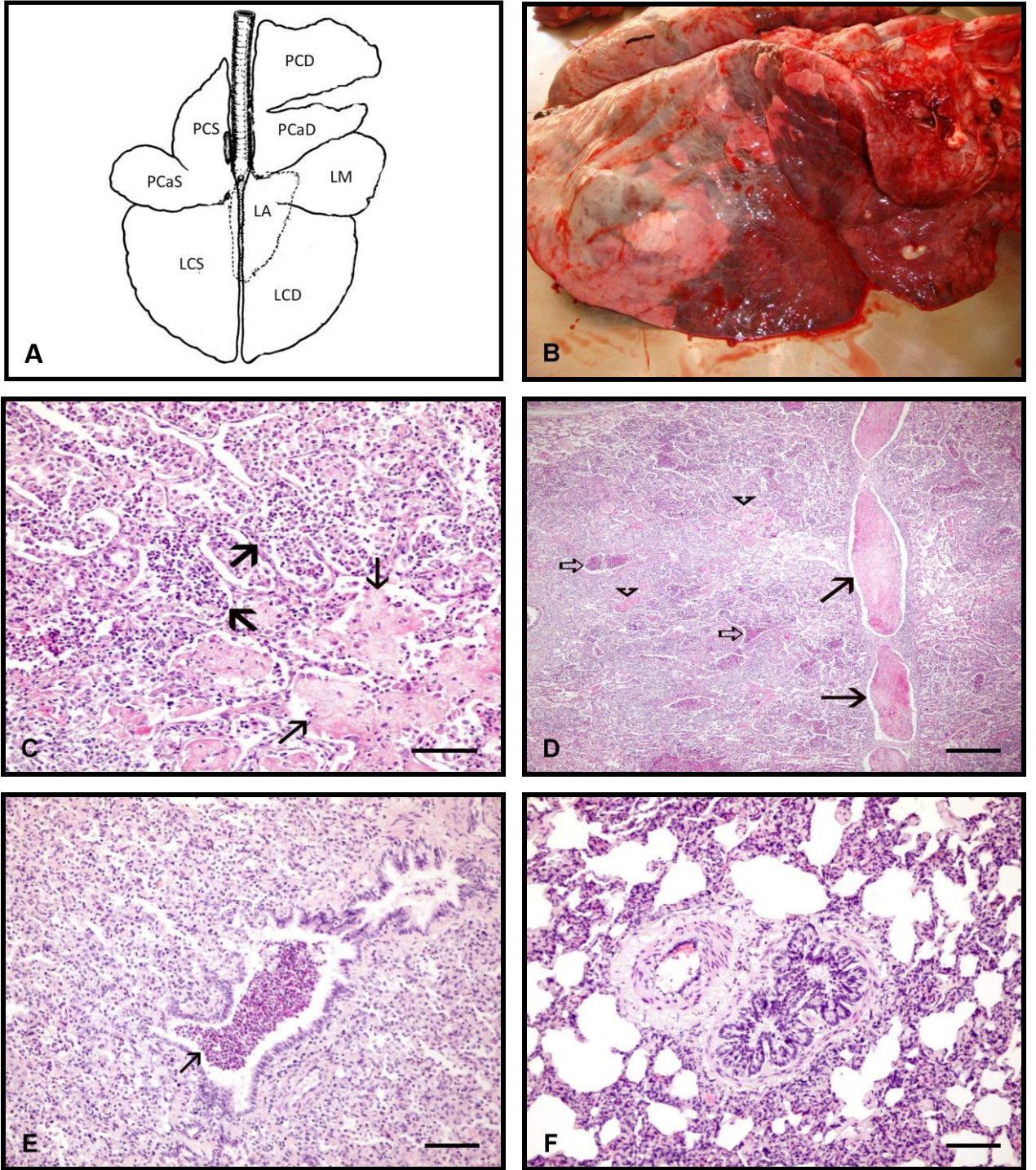
fibrinopurulent bronkopnömoni ( $7,50 \pm 0,55$ ), non-purulent bronkopnömoni ( $3,33 \pm 1,53$ ). Bu sonuçlara göre en yüksek şiddet skoru nekrotik-fibrinopurulent bronkopnömonilerde gözlenirken, en hafif şiddet skoruna non-purulent bronkopnömonilerde rastlanmıştır.

### **Ziehl-Neelsen Boyama Sonuçları**

Pozitif kontrol olarak kullanılan dokuda asidorezistant bakteriler açık mavi fonda parlak kırmızı olarak gözlenirken, *M. bovis* (+) hayvanların hiçbirinde asidorezistant bakteri bulunmadı.

### **Mikrobiyolojik İnceleme Sonuçları**

Mikrobiyolojik incelemesi yapılan 148 akciğer örneğinden 38'inde *M. bovis* izole ve tanımlanmıştır. Bu vakalardan 30'unda *M. bovis* izole edilebilen tek etkeni. Sekiz hayvanda ise *M. bovis*'in yanı sıra şu etkenler izole ve tanımlanmıştır: *P. multocida* (22, 28, 34, 36 nolu hayvanlar), *Streptococcus* spp. (16 ve 28 nolu hayvanlar), *A. pyogenes* (22 ve 39 nolu hayvanlar) ve *M. haemolytica* (25 ve 38 nolu hayvanlar).



**Şekil-1: Sığırdaki şematik akciğer ve *M. bovis* izole edilen akciğerlere ait makroskobik ve mikroskobik bulgular**

**A-** Sığırdaki akciğer loblarının şematik görünümü

(PCD-Pars cranialis dextra, PCaD-Pars caudalis dextra, LM-Lobus medialis, LA-Lobus accessorius, LCD-Lobus caudalis dextra, PCS-Pars cranialis sinistra, PCaS-Pars caudalis sinistra, LCS-Lobus caudalis sinistra)

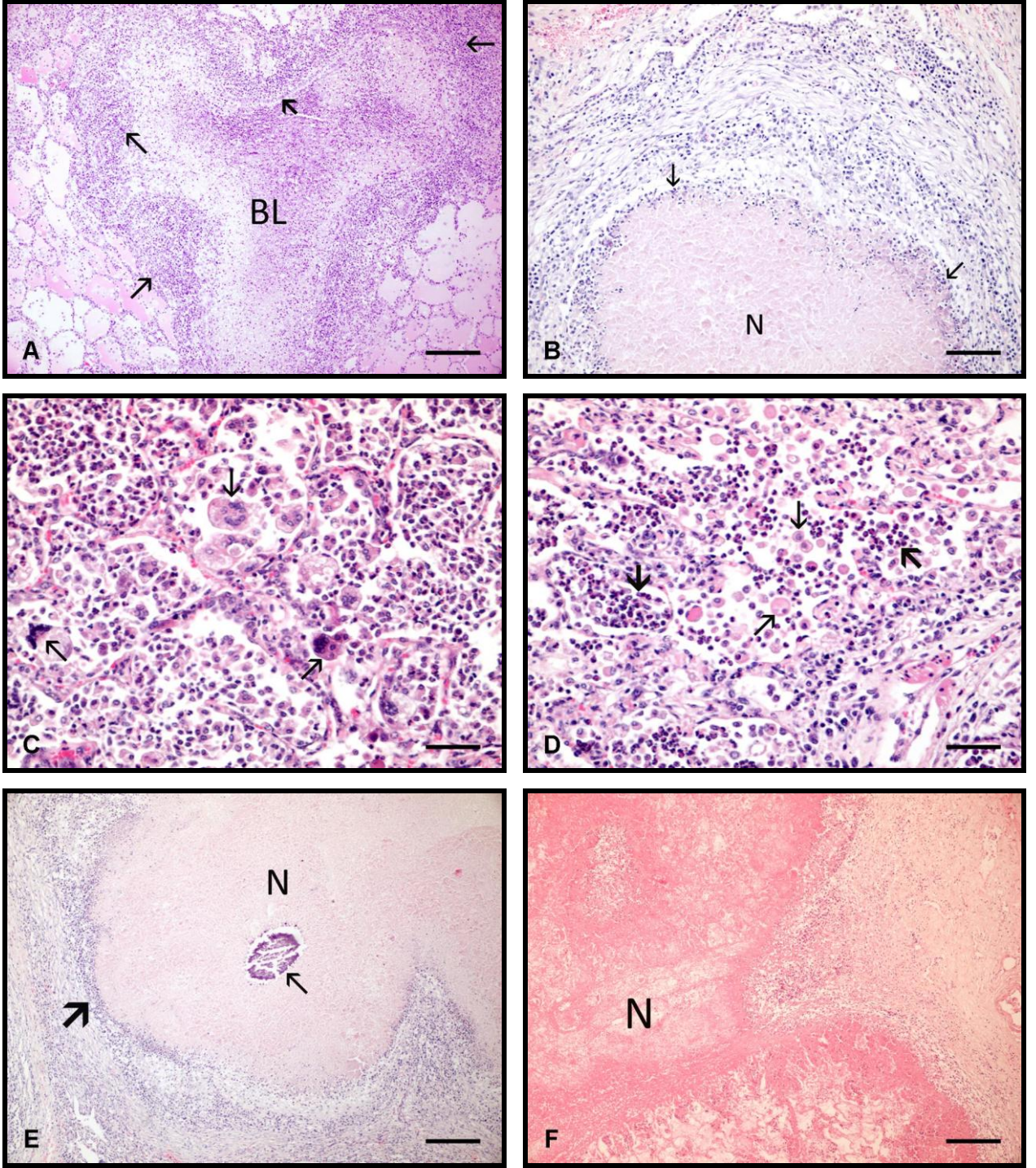
**B-** Akciğerin sağ loblarında gözlenen pnömoni tablosu

**C-** Fibrinopurulent pnömoni. Alveol lümenlerinde fibrin birikimi (ince oklar) ve nötrofil lökosit infiltrasyonları (kalın oklar). H&E, Bar = 50 µm (18 nolu hayvan)

**D-** İnterlobuler intersitisyumdaki lenfatik damarlarda fibrin tıkaçları (oklar), alveol lümenindeki fibrin birikimi (ok başları) ve alveol lümenlerindeki nötrofil lökosit infiltrasyonları (saydam oklar), H&E, Bar = 200 µm (18 nolu hayvan)

**E-** Bronşiyol lümeninde purulent eksudat (ok), H&E, Bar = 100 µm (9 nolu hayvan)

**F-** Yaygın şiddetli, bronkointersitisyel pnömoni, H&E, Bar = 100 µm (1 nolu hayvan)



**Şekil-2: *M. bovis* izole edilen pnömonili akciğerlerdeki mikroskobik lezyonlar**

**A-** Şiddetli bronşiyolit. Bronşiyol lümeni (BL) içerisindeki ve çevresindeki yangı hücreleri (ince oklar) ve sağlam kalmış bronşiyol epiteli (kalın ok), H&E, Bar = 200 µm (6 nolu hayvan)

**B-** Piyogranülomatöz yangı odağı, kazeifikasyon nekrozu (N) ve nekroz çevresindeki nötrofil lökosit infiltrasyonları (oklar). H&E, Bar = 100 µm (10 nolu hayvan)

**C-** Alveol lümenlerinde sinsitiyal hücre oluşumları (oklar), H&E, Bar = 50 µm (37 nolu hayvan)

**D-** Alveolar makrofajlardaki aktivasyon (ince oklar) ve alveol lümenlerinde nötrofil lökosit kümeleri (kalın oklar), H&E, Bar = 50 µm (37 nolu hayvan)

**E-** Kazeifikasyon nekrozu (N) ve kalsifikasyon (ince ok) ile kazeifikasyon nekrozu çevresindeki yangı hücreleri (kalın ok). H&E, Bar = 200 µm (6 nolu hayvan)

**F-** Yaygın, şiddetli koagulasyon nekroz alanı (N), H&E, Bar = 200 µm (20 nolu hayvan)

## Pnömoni Şiddeti ile Koefeksiyon Varlığı Arasındaki İlişki

Sadece *M. bovis* (+) izole edilen hayvanlarla, koefeksiyon gözlenen hayvanların farklı şiddetteki pnömonilere göre dağılımı Tablo 6'da verilmektedir.

**Tablo-6** *M. bovis* (+) hayvanlarda farklı pnömoni şiddetlerinin koefeksiyon olan ve olmayan hayvanlara göre dağılımı

	Pnömoni Şiddeti						
	2	3	4	5	6	7	8
Koefeksiyon olan hayvan sayısı (n=8)	0	2	0	2	1	2	1
Koefeksiyon olmayan hayvan sayısı (n=31)	1	4	0	3	7	8	8

p=0,328

Koefeksiyonun olduğu 8 hayvanın pnömoni şiddetinin ortalaması ( $5,50 \pm 1,85$ ) ile, olmadığı 31 hayvanın pnömoni şiddetinin ortalaması ( $6,16 \pm 1,77$ ) arasında istatistiksel fark ortaya konamadı (p=0,328).

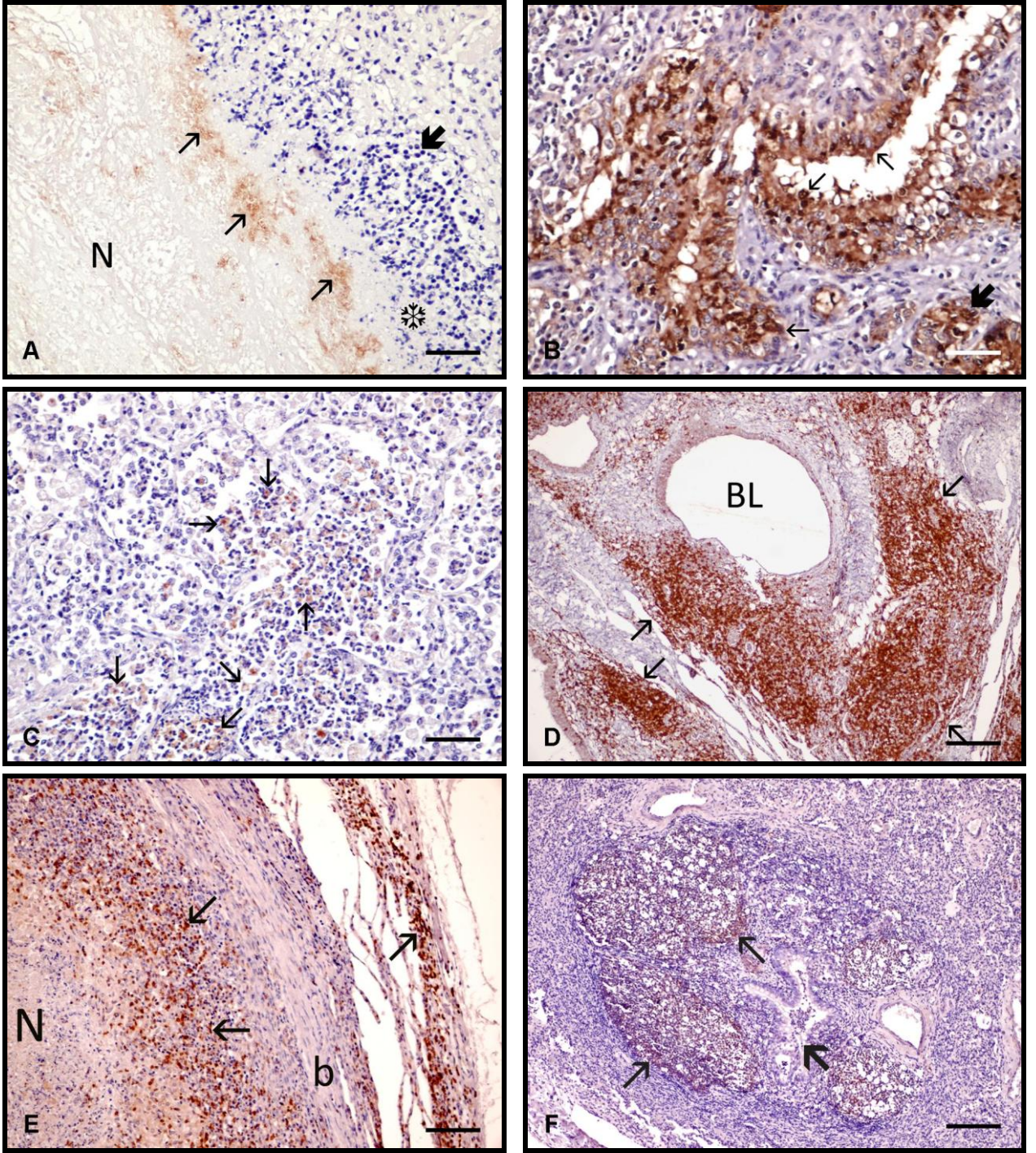
## İmmunohistokimyasal Boyama Sonuçları

### *M. bovis* Boyama Sonuçları

İmmunohistokimyasal incelemesi yapılan 39 vakadan 24'ünde etken nekrotik odakların merkezinde ve çevresinde (Şekil-3A); bronş, bronşiyol ve alveol epitelleri (Şekil-3B) ile varsa bu yapıların içerisindeki eksudat içerisinde; nötrofil (Şekil-3C), makrofaj ve alveolar makrofaj sitoplazmaları içerisinde kahverengi granüler boyanma tarzında gözlemlendi. İmmunohistokimyasal boyama sonuçlarına göre *M. bovis*'in akciğer dokusundaki yerleşimi Tablo 7'de gösterilmektedir. Buna göre etkene en fazla bronş ve bronşiyol epitellerinde (20 hayvanda), makrofaj (14 hayvan) ve nötrofil (11 hayvan) sitoplazmaları içerisinde rastlandı. Etkenin en az görüldüğü yer alveol epitelleriydi.

## *M. bovis* Mikrobiyolojik Ekim-İmmunohistokimya Sonuçlarının Karşılaştırılması

Mikrobiyolojik inceleme sonuçlarına göre *M. bovis* izole edilen 38 vakadan 24'ünde immunohistokimya ile etken gösterilirken, diğer 14 vakada *M. bovis* sadece mikrobiyolojik olarak ortaya konabildi. Bir hayvanda (hayvan no 37) ise immunohistokimyasal boyama ile etken bronş ve bronşiyol epitel hücreleri içerisinde,



**Şekil-3: *M. bovis* (+) akciğer örneklerinde etkenin, CD3 (+) T hücrelerinin ve CD79 (+) B hücrelerinin görünümü**

**A-** Koagülasyon nekrozu (N), nekrotik alanın periferal kısımlarındaki *M. bovis* (oklar) etkeni, nekroz alanını sınırlayan dejeneran- nekrotik nötrofil lökositler (kar tanesi) ve diğer yangı hücreleri (kalın ok), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 50 µm (20 nolu hayvan)

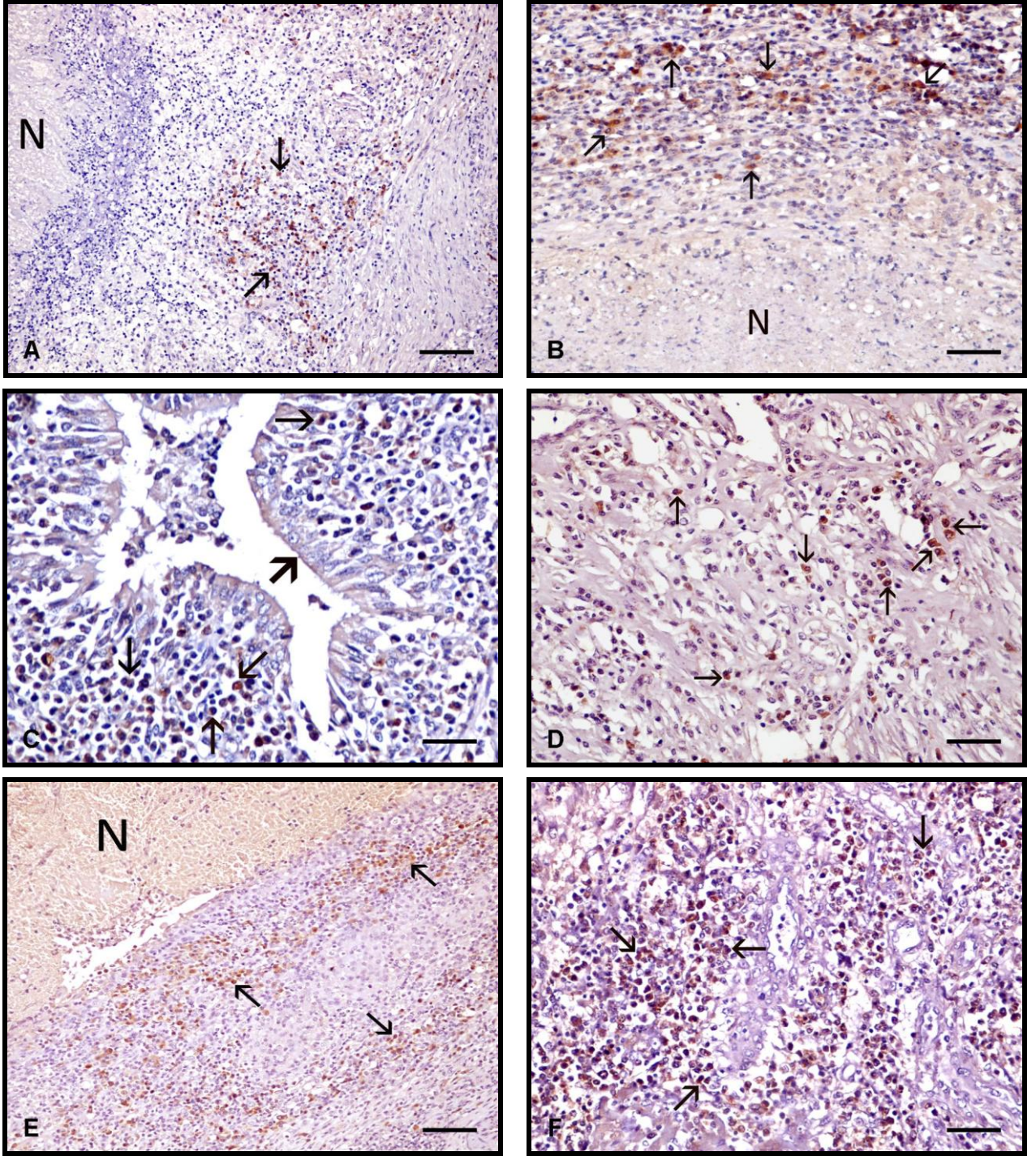
**B-** Bronşiyol epiteli (ince oklar) ve bronşiyol bez epitelindeki (kalın ok) etkenlerin gösterilmesi, Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 50 µm (27 nolu hayvan)

**C-** Alveol lümenlerindeki nötrofil lökositler içerisinde yerleşen etkenler (oklar), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 50 µm (37 nolu hayvan)

**D-** Bronşiyol etrafındaki lenfoid dokuda CD3 (+) T lenfositler (oklar), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 100 µm (19 nolu hayvan)

**E-** Nekroz alanı çevresinde CD3 (+) T lenfositler (oklar), nekroz alanı (N), nekroz alanı etrafındaki bağ doku (b), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 100 µm (5 nolu hayvan)

**F-** Bronşiyol (kalın ok) etrafındaki lenfoid dokuda CD79 (+) B hücreleri (ince oklar), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 200 µm (36 nolu hayvan)



**Şekil-4: *M. bovis* (+) akciğer örneklerinde CD79 (+), kappa hafif zinciri (+) ve lambda hafif zinciri (+) B hücreleri ve plazma hücrelerinin görünümü**

**A-** Nekroz alanı (N) etrafındaki CD79 (+) B hücreleri (oklar), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 100 µm (17 nolu hayvan)

**B-** Nekroz alanı (N) etrafındaki kappa hafif zincirleri (+) plazma hücreleri (oklar), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 50 µm (17 nolu hayvan)

**C-** Bronşiyol propria mukozasında kappa hafif zincirleri (+) plazma hücreleri (ince oklar) ve bronşiyol epiteli (kalın ok), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 50 µm (6 nolu hayvan)

**D-** İnterlobuler intersitisyumda bağ doku artışı ve kappa hafif zincirleri (+) plazma hücreleri (oklar), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 50 µm (12 nolu hayvan)

**E-** Nekroz alanı (N) etrafında lambda hafif zincirleri (+) plazma hücreleri (oklar), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 100 µm (6 nolu hayvan)

**F-** Yangılı bir bronşiyol etrafındaki lambda hafif zincirleri (+) plazma hücreleri (oklar), Streptavidin-biotin-peroksidaz metodu, karşı boyama Harris Hematoksilen, Bar = 50 µm (25 nolu hayvan)

**Tablo-7** İmmunohistokimyasal boyama sonuçlarına göre *M. bovis*'in akciğer dokusundaki yerleşimi

No	Nekroz merkezinde	Nekroz çevresinde	Eksudat içerisinde	Yangı hücrelerinin sitoplazmasında		Bronş, bronşiyol epitelinde	Alveol epitelinde	Alveolar makrofaj içerisinde
				Nötrofil	Makrofaj			
2	-	+	-	+	+	+	+	-
3	-	-	+	+	+	+	-	+
5	-	+	-	+	+	+	-	-
6	-	-	+	+	+	+	+	-
7	+	+	-	-	+	-	-	-
10	+	+	+	+	+	+	-	+
12	-	-	+	+	+	+	-	-
17	+	+	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	+	+	-	+
19	-	-	+	-	-	+	-	-
20	+	+	-	+	-	+	-	+
21	-	-	-	-	-	+	-	-
23	-	-	+	+	+	+	-	+
27	+	+	-	-	+	+	-	-
28	-	-	-	-	-	+	-	-
29	-	+	-	+	+	-	-	-
30	-	-	-	-	-	+	+	+
31	-	-	+	-	+	+	-	+
32	-	-	-	-	-	+	-	-
33	-	-	+	-	+	+	-	+
34	-	-	+	+	-	+	-	-
36	-	+	-	-	+	+	-	+
37	-	-	+	+	-	+	-	-
39	+	+	-	-	-	-	-	-
n=24	6	10	10	11	14	20	3	9



nötrofil lökositlerin sitoplazmalarında ve bronşiyol ve alveol lümenleri içerisinde gözlenirken, mikrobiyolojik incelemede etken üretilmedi.

### **İmmunohistokimyasal *M. bovis* Pozitivitesi-Pnömoni Şiddeti Arasındaki İlişki**

İmmunohistokimyasal inceleme sonucu etkenin gösterildiği 24 hayvanda ortalama pnömoni şiddeti  $6,38 \pm 1,50$  olarak bulunurken, etkenin sadece mikrobiyolojik inceleme sonucu ortaya konduğu 15 hayvanda  $5,47 \pm 2,10$  olarak saptandı. İki değer arasında istatistiksel açıdan önem bulunmadı ( $p=0,246$ ).

### **İmmunohistokimyasal *M. bovis* Pozitivitesi-Nekroz Varlığı Arasındaki İlişki**

İmmunohistokimyasal olarak etkenin gösterildiği ve gösterilmediği hayvanlar ile bu hayvanlardan akciğerlerinde nekrotik değişiklikler olanların sayıları Tablo 8’de verilmektedir.

**Tablo-8** İmmunohistokimyasal boyama sonuçlarına göre *M. bovis* (+) ve *M. bovis* (-) hayvan sayıları ile bu hayvanların akciğerlerindeki nekroz durumu

	<b>İmmunohistokimya <i>M. bovis</i> (+)</b>	<b>İmmunohistokimya <i>M. bovis</i> (-)</b>
<b>Nekroz var (n=18)</b>	14	4
<b>Nekroz yok (n=21)</b>	10	11

$p=0,053$

Yapılan istatistiksel analizde önem derecesi sınıra çok yakın olarak ( $p=0,053$ ) bulundu.

### **Yangı Hücreleri İçin Yapılan Boyamaların Sonuçları**

Yangı hücreleri için yapılan immunohistokimyasal boyamalarda elde edilen sonuçlar şu şekildeydi:

**CD3:** Pozitif boyanan hücreler bronş ve bronşiyoller çevresinde, interalveolar septumda, interlobuler intersitisyumda, plörada, BALT’ta (Şekil-3D) ve nekrotik alanlar çevresindeki hücre infiltrasyonu sahalarında (Şekil-3E) gözlemlendi. Boyanma hücre zarında koyu kahve renkte görüldü.

**CD79:** Pozitif boyanan hücreler belirgin olarak BALT'ta (Şekil-3F), bunun yanısıra bronş ve bronşiyoller çevresinde, interalveolar septumda, interlobuler intersitisyumda ve nekrotik odaklar çevresinde (Şekil-4A) görüldü. Boyanma çekirdek zarında, koyu kahve renkte gözlemlendi.

**Kappa hafif zincirleri:** Pozitif boyanan hücreler çoğunlukla nekrotik alanlar çevresindeki hücre infiltrasyonu sahalarında (Şekil-4B), bronş ve bronşiyoller çevresinde (Şekil-4C) ve daha az olarak da interalveolar septumda ve interlobuler intersitisyumda gözlemlendi. Boyanma hücre sitoplazmasında ve koyu kahve renkte görüldü.

**Lambda hafif zincirleri:** Pozitif boyanan hücreler interalveolar septumda ve interlobuler intersitisyumda (Şekil-4D), nekrotik alanlar çevresindeki hücre infiltrasyonu sahalarında (Şekil-4E) ve yoğun olarak da bronş ve bronşiyoller çevresinde (Şekil-4F) gözlemlendi. Boyanma hücre sitoplazmasında ve koyu kahve renkte görüldü.

#### **Yangı Hücrelerinin Yoğunluğu ve Dağılımı**

*M. bovis* (+) 39 hayvanda yangı hücrelerinin ortalama değerleri incelendiğinde en fazla yangı hücresinin  $3,06 \pm 0,77$  ile CD3 (+) boyanan hücreler olduğu gözlemlendi. Bunu  $2,30 \pm 0,99$  ile lambda hafif zincirleri (+) hücreler,  $2,24 \pm 1,03$  ile CD79 (+) hücreler ve  $2,16 \pm 0,85$  ile kappa hafif zincirleri (+) hücreler takip etti.

Farklı yoğunlukta hücre infiltrasyonu olan alanlarda, farklı tipteki hücrelerin dağılımını bulmak amacıyla, pnömonilerin şiddetlerinin hesaplanmasında kullanılan yangı hücresi skorları ile aynı preparatlarda immunohistokimyasal boyamaların incelenmesi sonucu elde edilen skorlar kullanıldı. Sonuçlar Tablo 9'da gösterilmektedir.

Tablodan da görüldüğü gibi CD79 (+), kappa hafif zincirleri (+) ve lambda hafif zincirleri (+) hücrelerde, toplam hücre yoğunluğunun artışına bağlı olarak genel bir artış eğilimi gözlemlenirken, en yüksek CD3 (+) hücre sayısına hücre yoğunluğu skoru 3 olan hayvanlarda rastlandı.

**Tablo-9** *M. bovis* (+) hayvanlarda farklı şiddetteki pnömonilerde yangı hücrelerinin değerleri (ortalama skor ± standard sapma)

Hücre Yoğunluğu Skoru*	CD3	CD79	Kappa Hafif Zincirleri	Lambda Hafif Zincirleri
2	2,38 ± 0,59 <sup>b</sup>	1,27 ± 0,43 <sup>b</sup>	1,33 ± 0,24 <sup>b</sup>	1,53 ± 0,53 <sup>b</sup>
3	3,37 ± 0,48 <sup>a</sup>	2,34 ± 1,03 <sup>ab</sup>	2,21 ± 0,73 <sup>a</sup>	2,06 ± 1,05 <sup>ab</sup>
4	3,14 ± 0,82 <sup>a</sup>	2,55 ± 1,02 <sup>a</sup>	2,47 ± 0,88 <sup>a</sup>	2,76 ± 0,89 <sup>a</sup>

\*Yoğunluk skoru 1 bulunan grupta sadece 2 hayvan yer aldığı için bu hayvanlara ait değerler istatistik analize alınmamıştır.

<sup>a, b</sup> Aynı sütun içerisinde farklı harfler belirgin farkı ifade etmektedir (p < 0,05)

### Bakteriyel Koenfeksiyon Varlığı-Yangı Hücresi Sayısı Arasındaki İlişki

*M. bovis* (+) hayvanlarda bakteriyel koenfeksiyon olma ve olmama durumu ile yangı hücrelerinin sayısı arasındaki ilişki Tablo 10'da sunulmaktadır.

**Tablo-10** *M. bovis* (+) hayvanlarda bakteriyel koenfeksiyon olup olmama durumlarında yangı hücrelerinin değerleri (ortalama skor ± standard sapma)

	CD3	CD79	Kappa Hafif Zincirleri	Lambda Hafif Zincirleri
Koenfeksiyon olan hayvan sayısı (n=8)	3,05 ± 0,83	2,35 ± 0,99	2,22 ± 0,87	2,34 ± 0,98
Koenfeksiyon olmayan hayvan sayısı (n=31)	3,11 ± 0,53	1,81 ± 1,13	1,91 ± 0,81	2,15 ± 1,12

p > 0,05

Yapılan istatistiksel analizde *M. bovis* (+) hayvanlarda bakteriyel koenfeksiyon olup olmamasının yangı hücrelerinin sayısı üzerine belirgin derecede etki etmediği görülmüştür (p > 0,05).

### Nekroz Varlığı-Yangı Hücresi Sayısı Arasındaki İlişki

*M. bovis* (+) hayvanlarda nekroz olma ve olmama durumu ile yangı hücrelerinin sayısı arasındaki ilişki Tablo 11'de sunulmaktadır.

**Tablo-11** *M. bovis* (+) hayvanlarda nekroz olup olmama durumlarında yangı hücrelerinin değerleri (ortalama skor  $\pm$  standard sapma)

	CD3	CD79	Kappa Hafif Zincirleri	Lambda Hafif Zincirleri
Nekroz yok (n=21)	3,08 $\pm$ 0,73	2,10 $\pm$ 1,02	3,58 $\pm$ 7,93 <sup>a</sup>	1,96 $\pm$ 0,99 <sup>b</sup>
Kazeifikasyon nekrozu (n=11)	3,32 $\pm$ 0,40	2,60 $\pm$ 1,07	2,68 $\pm$ 0,40 <sup>b</sup>	2,77 $\pm$ 0,84 <sup>a</sup>
Koagülasyon nekrozu (n=7)	2,60 $\pm$ 1,17	2,07 $\pm$ 1,01	1,94 $\pm$ 0,85 <sup>a</sup>	2,59 $\pm$ 0,95 <sup>ab</sup>

<sup>a, b</sup> Aynı sütun içerisinde farklı harfler belirgin farkı ifade etmektedir ( $p < 0,05$ )

Kappa hafif zincirleri için yapılan boyamalarda nekroz olmayan hayvanlardaki değerler, kazeifikasyon nekrozu şekillenmiş olan hayvanlardan ( $p=0,022$ ) ve kazeifikasyon nekrozu şekillenmiş olan hayvanlardaki değerler de koagülasyon nekrozu şekillenmiş olan hayvanlardan ( $p=0,027$ ) önemli derecede yüksek bulunmuştur. Lambda hafif zincirleri (+) hücre sayısı kazeifikasyon nekrozu şekillenmiş olan hayvanlarda, nekroz olmayan hayvanlara göre belirgin derecede yüksek olarak gözlenmiştir ( $p=0,022$ ).

### **İmmunohistokimyasal *M. bovis* Pozitivitesi-Yangı Hücresi Sayısı Arasındaki İlişki**

*M. bovis* (+) 39 hayvandan immunohistokimyasal boyama ile etkenin gösterildiği 24 hayvan ile gösterilmediği 15 hayvandaki yangı hücrelerinin dağılımı Tablo 12’de gösterilmektedir.

**Tablo-12** İmmunohistokimyasal boyamalar sonucu etkenin gösterildiği ve gösterilmediği hayvanlarda yangı hücresi değerleri (ortalama skor  $\pm$  standard sapma)

	CD3	CD79	Kappa Hafif Zincirleri	Lambda Hafif Zincirleri
İmmunohistokimya <i>M. bovis</i> (+) (n=24)	3,13 $\pm$ 0,79	2,44 $\pm$ 1,01	2,25 $\pm$ 0,75	2,46 $\pm$ 0,98
İmmunohistokimya <i>M. bovis</i> (-) (n=15)	2,95 $\pm$ 0,77	1,91 $\pm$ 1,02	2,00 $\pm$ 1,00	2,05 $\pm$ 1,00

$p > 0,05$

Etkenin immunohistokimya ile gösterildiği hayvanlarla, gösterilmediği hayvanlar arasında yangı hücreleri bakımından belirgin fark olmadığı gözlemlendi ( $p > 0,05$ ).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Bursa ili ve çevresinde yer alan mezbahalarda kesilen veya Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına incelenmek üzere getirilen pnömonili sığır akciğerlerinde *M. bovis* pnömonilerinin prevalansı ortaya konmuş, etkenin oluşturduğu pnömoninin histopatolojik incelemesi yapılmış, etken bakteriyolojik olarak izole ve tanımlanmış ve immunohistokimyasal olarak gösterilmiş, ayrıca etkene karşı gelişen yangısal yanıt incelenmiştir.

Çalışmanın deneysel bir çalışma olmaması ve mezbahada kesilen hayvanlarla yürütülmüş olması beraberinde çeşitli güçlükleri de getirmiştir. Hayvanların kesildiği ortamlar, karkasın incelendiği ve akciğerlerin karkastan ayrıldığı ortamların birbirinden farklı yerler olması hayvanlardan kan alınmasını ve hayvanlardaki diğer lezyonların takip edilmesini güçleştiren bir faktördür. Dolayısıyla serolojik muayene ve pnömoni ile birlikte hayvanlarda gözlenen diğer patolojik değişikliklerin incelenmesi bu çalışmanın amacı olarak ortaya konmamıştır. Benzer sebeplerden dolayı hayvanların geldikleri bölgelere ve yaşlarına ait bilgiler de toplanamamıştır. Ancak mezbahalarda sorumlu olan veteriner hekimlerle yapılan görüşmelerde hayvanların tamamının Marmara bölgesinde yetiştirilen hayvanlar olduğu öğrenilmiştir.

### **Etkenin Yaygınlığı**

Yapılan çalışmada Bursa ili ve çevresindeki mezbahalarda kesilen ya da Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına incelenmek üzere getirilen pnömonili sığır akciğerlerinde *M. bovis*'in prevalansı % 26,71 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar *M. bovis*'in bölgemizde en yaygın solunum sistemi patojenlerinden biri olduğunu ortaya koymaktadır.

*M. bovis*'in sığır pnömonilerindeki yaygınlığına yönelik olarak elde edilen oran, etkene yönelik olarak daha önce yapılmış olan çalışmalarla uyumludur (90-95). Etkenin özellikle Avrupa'daki yaygınlığı konusunda çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Pnömonili hayvanların akciğerlerinden ortalama % 20-30 arasında değişen oranlarda *M. bovis* izole edilmektedir. *M. bovis* açısından yapılan serolojik testlerde Fransa'da % 10-20 (96), Macaristan'da % 11 (80) ve İngiltere'de % 22 (97) seropozitivite tesbit edilmiştir. Bu çalışmada serolojik bir inceleme yapılmamış, sadece pnömoni bulguları gösteren hayvanlardan alınan örneklerde etken mikrobiyolojik ve immunohistokimyasal inceleme ile ortaya konmuştur. Makroskopik lezyon göstermeksizin etkeni akciğerlerinde bulundurabilen hayvanlar da olabileceği ve hastalığı geçirmiş olan hayvanların uzun süre

seropozitif oldukları göz önünde bulundurulduğunda, yapılacak serolojik testlerde sonuçların çok daha yüksek olarak bulunacağı beklenebilir. Son dönemde İtalya’da yapılan bir çalışmada yetişkin sığırlarda % 76, buzağılarda da % 100 oranında *M. bovis* seropozitivitesi saptanmış, rakamların bu kadar yüksek çıkmasının sebebi olarak da İtalya’da sığır yetiştiriciliğinde çiftlik yönetiminin kötü yapılması, hayvanların aşırı kalabalık olarak yetiştirilmesi ve dışarıdan sürülere kontrolsüz hayvan girişlerinin olması gösterilmiştir (53). Benzer şekilde, yönetim koşulları bakımından pek çok eksiğin bulunduğu ülkemizde etkenin bu kadar yaygın olmasının sebepleri arasında yönetsel hataların ve kötü bakım şartlarının etkili olduğu düşünülebilir.

Bu çalışmada gerek *M. bovis* (+), gerekse *M. bovis* (-) hayvanlarda en sık olarak etkilenen akciğer lobunun sağ kranial lobun pars kranialis (pars cranialis dextra) olduğu gözlenmiş, ancak istatistiksel analiz sonucu *M. bovis*’in yerleşimi bakımından loblar arasında belirgin bir fark olmadığı görülmüştür. Akciğer lobları arasında belirgin bir fark olmaması pnömoninin akciğer içerisinde hızlı bir şekilde diğer loblara da yayıldığı ve etkenin yerleşmeyi özellikle tercih ettiği bir lobun olmadığı tarzında yorumlanabilir.

### **Makroskobik Bulgular**

Çalışmada *M. bovis* (+) hayvanların akciğerlerinde mermer manzarası görünümünde konsolidasyon sahaları ile multifokal kazeifikasyon ve koagülasyon nekrozu alanları görülmüş, nekrotik alanların yer yer nodüler yapılar tarzında olduğu dikkati çekmiştir. Khodakaram-Tafti ve Lopez (84) sığırlarda gözlenen nekrotik bronkopnömonilerde, özellikle de bu nekroz bronş ve bronşiyoller çevresinde yerleşmiş olan piyogranüloamatöz bir yangının parçası ise, *M. bovis* pnömonisinden şüphe edilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Piyogranüloamatöz yangı ile birlikte kazeifikasyon nekrozu alanlarının gözlenmesi *M. bovis* için karakteristikken, koagülasyon nekrozu gözlenen olaylar *M. haemolytica* ve *H. somni* enfeksiyonlarından ayırt edilmelidir (84).

### **Mikroskobik Bulgular**

#### **Pnömonilerin Sınıflandırılması**

Çalışmada *M. bovis* pnömonileri akciğer dokusu içerisindeki dağılımı ve eksudat karakteri bakımından birlikte değerlendirildiğinde, lezyonların en sağlıklı olarak 7 grupta toplanabileceği görülmüştür. Yapılan sınıflandırmada en fazla gözlenen pnömoni tipi 10 hayvan ile fibrinopurulent bronkopnömoni olmuştur. Bunu 6’şar hayvan ile non-purulent bronkointersitisyel pnömoni ve nekrotik-fibrinopurulent bronkopnömoni takip etmiştir.

*M. bovis*'e bağlı pnömonilerin sınıflandırılmasında çeşitli çalışmalar arasında farklar mevcuttur. Radaelli ve arkadaşları (53) pnömonileri kronik bronkointersitisyel pnömoni, kronik kataral bronkopnömoni, kronik nekrotik-irinli bronkopnömoni, kronik-subakut fibrinonekrotik pnömoni ve eozinofilik bronkointersitisyel pnömoni olarak kategorize etmişlerdir. Bir başka çalışmada Khodakaram-Tafti ve Lopez (84) pnömonileri nekrotik-irinli bronkopnömoni, fibrinli-irinli-nekrotik bronkopnömoni, fibrinli-nekrotik bronkointersitisyel bronkopnömoni, irinli bronkopnömoni, kronik bronkointersitisyel pnömoni, fibrinli-nekrotik bronkopnömoni ve nekrotik bronkopnömoni olarak sınıflandırmıştır. Radaelli ve arkadaşlarının (53) yaptıkları sınıflandırma ile bu çalışmada kullanılan sınıflandırma karşılaştırıldığında genel olarak benzerlikler olduğu gözlenmektedir. Ancak adı geçen araştırmacıların rapor ettikleri kataral bronkopnömoni tipine ve sadece nekroz ve fibrinin gözlendiği pnömoni tipine bu çalışmada rastlanmamıştır. Yine Radaelli ve arkadaşları (53) tarafından rapor edilen eozinofilik bronkointersitisyel pnömoniyeye benzer bir tablo bu çalışmada gözlenmemiştir. Yine Khodakaram-Tafti ve Lopez (84) tarafından bahsedilen sadece nekrotik ve nekrotik-fibrinli pnömoni tiplerine de bu çalışmada rastlanmamıştır.

### **Hastalığın Gelişiminde Bronş ve Bronşiyollerin Rolü**

Daha önce yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda etkenin akciğer dokusu içerisindeki dağılımına bakılarak *M. bovis*'e bağlı olarak gelişen lezyonların bronkojenik yapıda olduğu (bronş ve bronşiyollerden etrafa doğru yayıldığı) iddia edilmiştir (53). Yapılan bu çalışmada pnömonilerin dağılım olarak 33 hayvanda bronkopnömoni tarzında şekillendiği, 6 hayvanda ise bronkointersitisyel pnömoni tarzında geliştiği gözlenmiş, kısaca her vakada bronş ve bronşiyollerde etkilenme durumu görülmüştür. Yine etkenin immunohistokimyasal olarak gösterilebildiği 24 vakanın 20'sinde etken bronş ve bronşiyol epitelleri içerisinde tesbit edilirken, sadece 3 vakada alveol epitelleri içerisinde gözlenmiştir. Bu bulgular etkenin yayılımının bronş ve bronşiyollerden çevreye doğru olduğu konusundaki düşünceleri desteklemektedir.

### **Nekroz Gelişimi**

*M. bovis* pnömonilerinde gelişen nekrozun tipi hakkında farklı raporlar mevcuttur. Bazı araştırmacılar etkilenen akciğerlerde kazeifikasyon nekrozu geliştiğini rapor ederlerken, bazı araştırmacılar ise koagülasyon nekrozu ve pulmoner apse gelişimlerini bildirmektedir (98). Bu çalışmada *M. bovis* saptanan 39 hayvandan 18'inde akciğerlerde

nekrotik alanların varlığı gözlenmiş, bu olayların 11'inde kazeifikasyon nekrozu bulunurken, yedi vakada koagülasyon nekrozunun varlığı dikkati çekmiştir. Kazeifikasyon nekrozu şekillenmiş olan akciğerlerin dördünde nekrotik alan içerisinde ayrıca kalsifikasyon gelişimi görülmüştür. Etkenin en bol olarak nekrotik alanlar içerisinde ve çevresinde gözlenmiş olması şekillenen nekrozda *M. bovis*'in doğrudan etkisini düşündürmektedir.

Spesifik patolojik ve immunohistokimyasal bulgular detaylı olarak rapor edilmiş olmasına rağmen (53, 98), *M. bovis*'in akciğerlerde şekillenen nekrotik-irinli odakların gelişimindeki rolü tam olarak ortaya konamamış, ancak *M. bovis* tarafından oluşturulan kompleks polisakkarid yapıdaki bir toksin ile şiddetli konakçı yanıtının bu lezyonların gelişiminden sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (53-55). Radaelli ve arkadaşları (53) nekrotik-irinli lezyonların bulunmadığı, daha çok bronkointersitisyel pnömoni ve intersitisyel pnömoni tarzında seyreden olaylarda, folliküler bronşitis ve bronşiyolitis fibroza obliterans benzeri kronik bulgular rapor etmişlerdir. Benzer bulgular, sadece *M. bovis* tarafından oluşturulan doğal ya da deneysel pnömoni olaylarında diğer araştırmacılar tarafından da gözlenmiştir (55, 98). Bu çalışmalarda yapılan immunohistokimyasal boyamalar, az sayıdaki etkenin bronş ve bronşiyol epitellerinin sitoplazmaları içerisinde ve peribronşiyoler intersitisyum içerisindeki histiositler içerisinde bulunduğunu ortaya koymuştur. *In vitro* çalışmalarda, alveolar makrofajlar tarafından etkenin öldürülebilmesi için spesifik antikorlara ihtiyaç duyulduğu ortaya konmuştur (99). Dolayısıyla epitel hücreleri içerisindeki az sayıdaki etken humoral yanıtın ve alveolar makrofajlardan kaçarak kronik yangısal cevabın oluşumuna sebep olabilir (53, 100). Bu çalışmada etkenin immunohistokimyasal olarak gösterilebildiği 24 vakanın 20'sinde bronş ve bronşiyol epitel hücrelerinin sitoplazmaları içerisinde etkenin boyandığı gözlenmiştir. Etkenin yüzey antijenlerini sık sık değiştirmesi de savunma sisteminden kaçmasında etkin olan bir faktördür (62, 101, 102). *M. bovis*'in ayrıca nötrofillerin fonksiyonlarını bozduğu bilinmektedir (48).

### **Koenfeksiyonlar**

Bu çalışmada 8 hayvanda *M. bovis*'in yanısıra bakteriyel etken olarak *P. multocida*, *Streptococcus* spp., *A. pyogenes* ve *M. haemolytica* izole edilmiştir. *M. bovis*'in konakçı savunma sistemini zayıflattığı ve diğer patojenlerin yerleşmesi için akciğerlerde uygun bir ortam oluşturduğu, dolayısıyla miks enfeksiyonların görülebildiği daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (61, 103-105). *M. bovis* ile birlikte akciğerlerden izole



edilebilen başlıca patojenler *P. multocida*, *M. haemolytica*, *H. somni*, *A. pyogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *Salmonella* spp.'dir (53, 90, 98, 106). Viral etkenlerden bovine viral diarrhoea (BVD) virus, bovine herpes virus 1 (BHV1), bovine parainfluenza 3 (BPIV3) virusları da sıklıkla *M. bovis* pnömonilerine eşlik eder (85, 91). Bu çalışmada *M. bovis* ile başka bir patojenin birlikte görülme oranı % 20,51 olarak tesbit edilmiştir. *M. bovis* ile birlikte lezyonlardan en fazla izole edilen etken *P. multocida* olmuştur. Kuzey İrlanda'da 1993-1998 dönemini kapsayan bir çalışmada *M. bovis*-pozitif 287 hayvanda pnömoni olaylarından izole edilen en yaygın diğer etkenler *M. haemolytica* (% 20,56), *A. pyogenes* (% 9,06) ve *P. multocida* (% 8,36) olarak bulunmuştur (90). İtalya'da yapılan bir başka çalışmada ise 70 buzağının % 17,14'ünde *M. bovis* saf olarak izole edilirken % 5,7'sinde diğer etkenlerle birlikte (3 vakada *P. multocida*, 1 vakada *A. pyogenes*) izole edilmiştir (53). İncelendiğinde hem bu çalışmada, hem de diğer çalışmalarda *M. bovis*'e bağlı pnömoni gelişen hayvanlarda izole edilen diğer etkenlerin benzer oldukları görülmektedir.

*M. bovis* ile birlikte diğer etkenlerin birlikte görüldüğü pnömonilerde akciğerlerde şekillenen lezyonların daha şiddetli olduğu rapor edilmiştir (53, 84, 98, 103, 107). Akciğerlerin savunma mekanizmasını bozan ve akciğerleri bakteriyel enfeksiyonlara duyarlı hale getiren bazı viral etkenlere (108) benzer şekilde, *M. bovis*'in de enfekte buzağılarda immunsupresyon yapabileceği gösterilmiştir. *In vitro* çalışmalar *M. bovis*'in aktif hale getirilmiş sığır lenfositlerinde apoptosisi tetiklediğini (60) ve ayrıca lenfoinhibitör bir peptid salgıladığını (105) göstermiştir. *M. bovis* tarafından üretilen spesifik endonükleazların lenfositlerde oluşturduğu şiddetli DNA hasarının bu hücrelerde apoptotik sinyali tetiklediği düşünülmektedir (104). Ancak bu çalışmada istatistik analiz sonucu bakteriyel koenfeksiyon olan hayvanlarda şekillenmiş olan pnömoninin, bakteriyel koenfeksiyon olmayan hayvanlardakinden daha şiddetli olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu durum Marmara Bölgesinde etkenin patojenitesinin yüksek olmuş olmasından ya da birlikte seyreden viral enfeksiyonlardan kaynaklanmış olabilir. Dikkatli incelendiğinde koenfeksiyon olsun ya da olmasın *M. bovis* pnömonilerinin çok şiddetli olarak seyrettiği (39 hayvandan 26'sında şiddet derecesi olarak 6-8) gözlenmiştir.

## **İmmunohistokimyasal Boyamalar**

### ***M. bovis* Boyamaları**

Bu çalışmada etken hem bakteriyolojik olarak izole ve tanımlanmış, hem de immunohistokimya yöntemi kullanılarak ortaya konmuştur. İncelemesi yapılan toplam 148 akciğer dokusu örneğinden 38'inde *M. bovis* izole ve tanımlanmıştır.

immunohistokimyasal olarak etkenin ortaya konması daha az vakada (n=24) mümkün olmuştur. İlk aşamada teknik bir problem düşüncesi oluşturan bu durum, daha önce çeşitli araştırmacılar tarafından da ortaya konmuş olan bir bulgudur. Radaelli ve arkadaşları (53) yaptıkları çalışmada pnömonili 64 buzağının 16'sında *M. bovis* izole etmiş, ancak immunohistokimyasal olarak bu vakalardan sadece 7'sinde etkeni gösterebilmişlerdir. Bu araştırmacılar bakteriyolojik olarak pozitif, immunohistokimyasal olarak negatif olan olayların kataral bronkointersitisyel pnömoni ile ilişkili olduğunu, etkenin immunohistokimyasal olarak ortaya konabildiği olaylarda ise pnömoninin bronkojenik nekrotik-irinli ve fibrinonekrotik olduğunu belirterek, etkenin immunohistokimyasal olarak ortaya konabilmesi ile pnömoninin şiddeti arasında ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir. Benzer çalışmalarda *M. bovis* antikoru ile güçlü boyanmanın olduğu olaylarda lezyonların kronik irinli bronkopnömoni, nekrozlaşma ve apseleşme tarzında olduğu rapor edilmiştir (85, 98). Bu çalışmada da akciğerlerde yaygın nekroz alanları şekillenmiş vakalarda, etkeni nekroz odakları içerisinde ve çevresinde görmek daha kolayken, nekroz olaylarının daha sınırlı olduğu ya da hiç nekrozun görülmediği olaylarda etkeni ortaya koymak için detaylı inceleme yapmak gerekmiştir. Etken nekrotik alanların yanısıra bronş, bronşiyol ve alveol epitellerinde; yine bronş, bronşiyol ve alveoller içerisinde yer alan eksudat içerisinde ve makrofaj ve nötrofil sitoplazmaları içerisinde de gösterilmiştir. Hayvanlarda nekroz bulunması ile immunohistokimyasal olarak etkenin ortaya konması arasında istatistiksel olarak ilişki olup olmadığını bulmaya yönelik olarak yapılan incelemede, önem derecesinin sınıra çok yakın ( $p=0,053$ ) çıkması hayvanların akciğerlerinde nekroz şekillenmiş olmasının immunohistokimyasal incelemede *M. bovis* etkeninin gösterilebilme ihtimalini arttırdığını düşündürmektedir.

Radaelli ve arkadaşları (53) diğer etkenlerle birlikte seyreden enfeksiyonlarda, *M. bovis* boyanmasının daima pozitif olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmada koenfeksiyonun gözlendiği 8 vakadan 4'ünde etken immunohistokimya ile de ortaya konmuştur. Bu sonuçlar, yukarıda bahsedilen sonuçlarla birlikte ele alındığında, *M. bovis* pnömonilerinde sadece histopatolojik inceleme yaparak ya da etkeni immunohistokimyasal olarak ortaya koymaya çalışarak kesin teşhise gitmeye çalışmanın yetersiz olduğunu göstermektedir. Daha önceki çalışmalardan farklı olarak, bu çalışmada bir vakada etken sadece immunohistokimya ile ortaya konarken, yapılan bakteriyolojik ekimlerde etkeni üretmek mümkün olmamıştır. Bu vakada gerek bakteriyolojik ekim metodu yönünden, gerekse immunohistokimyasal inceleme amacıyla yapılan laboratuvar işlemleri açısından diğer hayvanlardakinden farklı bir uygulama yapılmadığı göz önünde bulundurulduğunda, bu

hayvanda kesim öncesi yüksek dozda antibiyotik uygulaması yapılmış olabileceği ya da akla gelmeyen başka bir sebebin bu sonuçtan sorumlu olduğu düşünülebilir.

### **Yangı Hücrelerinin Boyamaları**

İmmüsupresyon özellikleri olmasına rağmen *M. bovis* vücuda girdiği zaman bir immün yanıtın doğmasına sebep olur ve bu immün yanıtın detaylı olarak anlaşılabilmesi hastalığın tedavi sürecine katkı yapacaktır. Bu çalışmanın temel amaçlarından biri de *M. bovis*'e bağlı olarak gelişen immün yanıtta yangı hücrelerinin dağılımının incelenmesi olmuştur. Bu amaçla T lenfositler için CD3, B lenfositler için CD79 ve plazma hücreleri için kappa hafif zincirleri ve lambda hafif zincirleri antikoları kullanılarak söz konusu savunma hücrelerinin dokulardaki varlığı incelenmiştir.

Mycoplasma pnömonilerinde yaygın olarak gözlenen bulgulardan biri akciğerlerde mononükleer hücre sayısının artmasıdır (31). Bu durum peribronşiyolar ve perivasküler bölgelerde bu hücrelerin artmasına sebep olur. Rodriguez ve arkadaşları (31) keçilerde deneysel olarak oluşturdukları Mycoplasma pnömonisinde BALT'ta B lenfosit ve plazma hücresi sayısının artmış olmasına rağmen, temel artışın CD3 (+) T lenfositlerde olduğunu görmüş ve hücre aracılı immüitenin önemini vurgulamışlardır.

Yapılan çalışmada yangı hücrelerinin sayısının hücre yoğunluğu skorunun artmasına bağlı olarak artma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Ortalama yangı hücresi sayıları incelendiğinde, bu çalışmadaki *M. bovis* pnömonilerinde en fazla bulunan yangı hücresinin T lenfosit olduğu görülebilir. Bu durum *M. bovis* enfeksiyonlarında hücre aracılı immüitenin önemine vurgu yapan çalışmalarla uyum içerisindedir (31, 61).

Bu çalışmada etkenin immunohistokimyasal olarak gösterildiği vakalarla, immunohistokimyasal boyamalarda negatif sonuç alınan vakalar arasında yangı hücrelerinin sayısı bakımından fark gözlenmemiş, yine koenfeksiyon olan durumlarla, *M. bovis*'in izole edilen tek etken olduğu durumlarda farklı yangı hücrelerinin yoğunluğu açısından belirgin farklar olmadığı ortaya konmuştur. Nekrozun şekillenmediği hayvanlarla, kazeifikasyon nekrozu ve koagülasyon nekrozu olan hayvanlarda T hücreleri ve B hücreleri yönünden belirgin farklar gözlenmezken, kappa hafif zincirleri (+) ve lambda hafif zincirleri (+) hücreler yönünden bazı farklar görülmüştür. Bu durumun detaylı olarak incelenmesinin *M. bovis* pnömonilerinde nekroz gelişim mekanizmasının anlaşılmasına katkı yapabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma ile *M. bovis*'in Marmara Bölgesindeki sığır pnömonilerinde çok yaygın olarak bulunan bir etken olduğu ortaya konmuştur. *M. bovis* bu

pnömonilerin büyük çoğunluğundan tek başına sorumluyken, bazı vakalarda diğer bakteriyel etkenler de rol almaktadır. Akciğerlerde gözlenen patolojik lezyonların çok şiddetli olması, bölgemiz sığırlarında pnömoniye sebep olan *M. bovis*'in patojenitesinin çok yüksek olduğunu düşündürmüştür. İmmunohistokimyasal olarak yapılan çalışmalarla hastalığın teşhisine ve patojenezinin anlaşılmasına yönelik olan bilgilere katkı yapıldığı umulmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. TÜRKİYE İSTATİSTİK KURUMU.  
[http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb\\_id=46&ust\\_id=13](http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13) (Giriş tarihi: 5 Haziran 2009).
2. ALİBAŞOĞLU M, YEŞİLDERE T. Veteriner sistemik patoloji, cilt:1, Kardeşler Basımevi, İstanbul, sayfa 233-248, 1988.
3. BLECHA F, BOYLES SL, RILEY JG. Shipping suppresses lymphatic blastogenic responses in Angus and Brahman x Angus feeder calves. *Journal of Animal Science*, 59: 576-583, 1984.
4. COLE NA. Review of bovine respiratory disease: Nutrition and disease interactions. Editor: SMITH R, Review of bovine respiratory disease- Schering-Plough Animal Health. Veterinary Learning Systems, Trenton, pages 57-74, 1996.
5. CASWELL JL, ARCHAMBAULT M. *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. *Animal Health Research Reviews*, 8: 161-186, 2008.
6. NICHOLAS RA, AYLING RD. *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. *Research in Veterinary Science*, 74: 105-112, 2003.
7. ROSENGARTEN R, CITTI C. The role of ruminant Mycoplasmas in systemic infection. Editors: STIPKOVITS L, ROSENGARTEN R, FREY J, *Mycoplasmas of ruminants: Pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics*, volume 3, European Commission, Brussels, pages 14-17, 1999.
8. REEVE-JOHNSON L. The impact of Mycoplasma infections in respiratory disease in cattle in Europe. Editors: STIPKOVITS L, ROSENGARTEN R, FREY J, *Mycoplasmas of ruminants: Pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics*, volume 3, European Commission, Brussels, pages 18-31, 1999.
9. DİNLER U, SAĞLAM YS. Pnömoni'li sığır akciğerlerinde *Mycoplasma* spp. ve *Pasteurella multocida*'nın izolasyonu, identifikasyonu ve patolojik araştırmalar. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 14: 133-145, 1998.
10. ERDAĞ O, ERDOĞAN İ, TÜRKASLAN J, GÜREL A. Buzağı ve dana pnömonilerinde Mycoplasma ve bakteriyel etkenlerin izolasyon, identifikasyon ve antibiyotik duyarlılıkları. *Animal İnformasyon*, 112: 115-119, 1995.
11. ÖZEN H, KARAMAN M, ŞAHİN M, ÖZCAN K. Pnömonili sığırlarda *Mycoplasma bovis*, *M. dispar*, *M. bovirhinis* ve *M. mycoides* subsp. *mycoides* (küçük koloni tip)'in PZR ile belirlenerek patolojik bulguların incelenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15: 125-133, 2009.
12. ÖZDEMİR Ü, TÜRKYILMAZ MA. Buzağılarda önemli pnömoni etkenlerinden *Mycoplasma bovis*'in izolasyonu ve identifikasyonu, VIII. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, Van, sayfa 82, 2008.
13. ORTATATLI M, ÇİFTÇİ MK. Konya bölgesi mezbahalarında kesilen besi danalarında pnömonilerin insidensi ve patolojisi. *Veterinarium*, 16: 24-35, 2005.
14. DUNGWORTH DL. The respiratory system. Editor: JUBB KVF, KENNEDY PC, PALMER N. *Pathology of domestic animals*, volume 2, fourth edition, Academic Press, San Diego, pages 589-613, 1993.

15. HAZIROĞLU R, MİLLİ ÜH. Veteriner Patoloji, cilt 2, 1. baskı, Tamer Matbaacılık, Yayıncılık, Tanıtım ve Hizmetleri Ticaret ve Pazarlama Ltd. Şti., Ankara, sayfa 46-64, 1998.
16. LOPEZ A. Respiratory System. Editors: MCGAVIN MD, ZACHARY JF, Pathologic basis of veterinary disease, fourth edition, Mosby Elsevier, St. Louis, pages 505-517, 2007.
17. HALE HH, HELMBOLDT CF, PLASTRIDGE WN, STULA EF. Bovine mastitis caused by *Mycoplasma* species. Cornell Veterinarian, 52: 582-591, 1962.
18. GOURLAY RN, THOMAS LH, , HOWARD CJ. Pneumonia and arthritis in gnotobiotic calves following inoculation with *Mycoplasma agalactiae* subsp. *bovis*. Veterinary Record, 98: 506-507, 1976.
19. QUINN PJ, MARKEY BK, CARTER ME, DONNELLY WJC, LEONARD FC. Mycoplasmas, Editors: QUINN PJ, MARKEY BK, CARTER ME, DONNELLY WJC, LEONARD FC, Veterinary microbiology and microbial disease, Blackwell Publishing, Iowa, pages 189-195, 2002.
20. RAZIN S, FREUNDT EA. The Mycoplasmas. Editors: RAZIN S, FREUNDT EA, Bergey's manual of systematic bacteriology, volume I, Williams and Wilkins, Baltimore, pages 740-770, 1984.
21. MATTSSON JG, GUSS B, JOHANSSON KE. The phylogeny of *Mycoplasma bovis* as determined by sequence analysis of the 16S rRNA gene. FEMS Microbiology Letters, 115: 325-328, 1994.
22. TOLA S, IDINI G, ROCCHIGIANI AM, MANUNTA D, ANGIOI PP, ROCCA S, COCCO M, LEORI G. Comparison of restriction pattern polymorphism of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis* by pulsed field gel electrophoresis. Zentralblatt für Veterinärmedizin B, 46: 199-206, 1999.
23. WILLIAM AS, ROUSE H, FISHER BD. Mycoplasma, Editors: HARVEY AR, CHAMPE AP, Microbiology, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, pages 229-234, 2001.
24. HERMANN R. Genome structure and organization. Editor: MANILOFF J. Mycoplasmas: molecular biology and pathogenesis. American Society of Microbiology, Washington DC, pages 157-168, 1992.
25. MILES RJ, WADHER BJ, HENDERSON CL, MOHAN K. Increased yields of *Mycoplasma* spp. in the presence of pyruvate. Letters in Applied Microbiology, 7: 149-151, 1988.
26. PFÜTZNER H, SCHERWA B, TRUBNER S. Sensitivity of *Mycoplasma bovis* to disinfection agents applied to the udder area. Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin, 37: 485-489, 1983.
27. WALKER RL. Mollicutes, Editors: HIRSH DC, ZEE YC, Veterinary microbiology, third edition, Blackwell Publishing, Iowa, pages 165-172, 1999.
28. WHITHER K. Diseases due to Mycoplasmas, Editors: WILLIAMS ES, BARKER I, Infectious diseases of wild mammals, third edition, Blackwell Publishing, Iowa, page 415, 2001.
29. PFÜTZNER H. Epizootiology of the *Mycoplasma bovis* infection of cattle. Zentralblatt für Bakteriologie Supplement, 20: 394-399, 1990.

30. BOCKLISCH H, KREUSEL S, BRY S, PFÜTZNER H. Experimental infection of the udder of ewes due to *Mycoplasma bovis*. Zentralblatt für Veterinärmedizin B, 38: 385-390, 1991.
31. RODRIGUEZ F, SARRADELL J, POVEDA JB, BALL HJ, FERNÁNDEZ A. Immunohistochemical characterization of lung lesions induced experimentally by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis* in goats. Journal of Comparative Pathology, 123: 285-293, 2000.
32. EGWU GO, AMEH JA, ALIYU MM, MOHAMMED FD. Caprine Mycoplasmal mastitis in Nigeria. Small Ruminant Research, 39: 87-91, 2001.
33. MADOFF S, PIXLEY BQ, DELGIUDICE RA, MOELLERING RC Jr. Isolation of *Mycoplasma bovis* from a patient with systemic illness. Journal of Clinical Microbiology, 9: 709-711, 1979.
34. PFÜTZNER H, SCHIMMEL D. *Mycoplasma bovis* isolation in the offspring of cows with *M. bovis* mastitis and its epizootiological significance. Zentralblatt für Veterinärmedizin, B, 32: 265-279, 1985.
35. PFÜTZNER H, KIELSTEIN P, MARTIN J, SCHIMMEL D. Mycoplasma infection of calves. 2. Experimental infection of calves with *Mycoplasma bovis*. Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin, 37: 445-451, 1983.
36. STIPKOVITS L, RIPLEY P, VARGA J, PALFI V. Clinical study of the disease of calves associated with *Mycoplasma bovis* infection, Acta Veterinaria Hungarica, 48: 387-395, 2000.
37. ROMVÁRY J, RÓZSA J, STIPKOVITS L, MÉSZAROS J. Incidence of diseases due to *Mycoplasma bovis* in a cattle herd. I. Pneumo-arthritis syndrome in calves. Acta Veterinaria Hungarica, 27: 29-37, 1977.
38. THOMAS CB, WILLEBERG P, JASPER DE. Case-control study of bovine mycoplasmal mastitis in California. American Journal of Veterinary Research, 42: 511-515, 1981.
39. KREUSEL S, BOCKLISCH H, PFÜTZNER H, BRY S, LEIRER R, ZIEGENHALS U. Experimental infections of bulls with *Mycoplasma (M.) bovis* and *M. bovis genitalium*. Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin, 43: 705-712, 1989.
40. EAGLESOME MD, GARCIA MM. The effect of *Mycoplasma bovis* on fertilization processes in vitro with bull spermatozoa and zona-free hamster oocytes. Veterinary Microbiology, 21: 329-337, 1990.
41. RICHTER A, PFÜTZNER H. Detection of mycoplasmas in experimentally-infected bull sperm. Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin, 43: 721-724, 1989.
42. PFÜTZNER H, SACHSE K. *Mycoplasma bovis* as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle. Revue Scientifique et Technique, 15: 1477-1494, 1996.
43. HORVÁTH GY, STIPKOVITS L, VARGA ZS, ZOLDÁG L, MÉSZAROS J. Infection of cows by *Mycoplasma bovis*. Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin, 37: 401-403, 1983.
44. SACHSE K, PFÜTZNER H, HELLER M, HANEL I. Inhibition of *Mycoplasma bovis* cytoadherence by a monoclonal antibody and various carbohydrate substances. Veterinary Microbiology, 36: 307-316, 1993.

45. SACHSE K, GRAJETZKI C, ROSENGARTEN R, HANEL I, HELLER M, PFÜTZNER H. Mechanisms and factors involved in *Mycoplasma bovis* adhesion to host cells. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 284: 80-92, 1996.
46. SACHSE K, HELBIG JH, LYSNYANSKY I, GRAJETZKI C, MULLER W, JACOBS E, YOGEV D. Epitope mapping of immunogenic and adhesive structures in repetitive domains of *Mycoplasma bovis* variable surface lipoproteins. *Infection and Immunity*, 68: 680-687, 2000.
47. HOWARD CJ, THOMAS L H, PARSONS KR. Comparative pathogenicity of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma dispar* for the respiratory tract of calves. *Israel Journal of Medical Sciences*, 23: 621-624, 1987.
48. THOMAS CB, VAN ESS P, WOLFGRAM LJ. Adherence to bovine neutrophils and suppression of neutrophil chemiluminescence by *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 27: 365-381, 1991.
49. HOWARD CJ. Comparison of bovine IgG1, IgG2 and IgM for ability to promote killing of *Mycoplasma bovis* by bovine alveolar macrophages and neutrophils. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 6: 321-326, 1984.
50. HOWARD C J, TAYLOR G, COLLINS J, GOURLAY R N. Interaction of *Mycoplasma dispar* and *Mycoplasma agalactiae subsp. bovis* with bovine alveolar macrophages and bovine lacteal polymorphonuclear leukocytes. *Infection and Immunity*, 14: 11-17, 1976.
51. RODRIGUEZ F, BRYSON DG, BALL HJ, FORSTER F. Pathological and immunohistochemical studies of natural and experimental *Mycoplasma bovis* pneumonia in calves. *Journal of Comparative Pathology*, 115: 151-162, 1996.
52. POUMARAT F, LE GRAND D, BERGONIER D. Propriétés générales des mycoplasmes et hypervariabilité antigénique. *Point Veterinaire*, 28: 761-767, 1996.
53. RADAELLI E, LUINI M, LORIA GR, NICHOLAS RAJ, SCANZIANI E. Bacteriological, serological, pathological and immunohistochemical studies of *Mycoplasma bovis* respiratory infection in veal calves and adult cattle at slaughter. *Research in Veterinary Science*, 85: 282-290, 2008.
54. GEARY SJ, TOURTELLOTTE ME, CAMERON JA. Inflammatory toxin from *Mycoplasma bovis*: isolation and characterization. *Science*, 212: 1032-1033, 1988.
55. RODRIGUEZ F, BRYSON DG, BALL HJ, FORSTER F. Pathological and immunohistochemical studies of natural and experimental *Mycoplasma bovis* pneumonia in calves. *Journal of Comparative Pathology*, 115: 151-162, 1996.
56. BRYSON DG, BALL HJ, BRICE N, FORSER F, POLLOCK DS. Pathology of induced *Mycoplasma bovis* calf pneumonia in experimentally vaccinated animals. Editors: STIPKOVITS L, ROSENGARTEN R, FREY J, *Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics*, volume 3, European Commission, Brussels, pages 128-132, 1999.
57. JUNGI TW, KRAMPE M, SILEGHEM M, GRIOT C, NICOLET J. Differential and strain-specific triggering of bovine alveolar macrophage effector functions by mycoplasmas. *Microbial Pathogenesis*, 21: 487-498, 1996.
58. FINCH JM, HOWARD CJ. Inhibitory effect of *Mycoplasma dispar* and *Mycoplasma bovis* on bovine immune responses *in vitro*. *Zentralblatt für Bakteriologie*, Suppl. 20, 563-569, 1990.



59. THOMAS CB, METTLER J, SHARP P, JENSEN-KOSTENBADER J, SCHULTZ RD. *Mycoplasma bovis* suppression of bovine lymphocyte response to phytohemagglutinin. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 26: 143-155, 1990.
60. VANDEN BUSH TJ, ROSENBUSCH RF. *Mycoplasma bovis* induces apoptosis of bovine lymphocytes. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 32: 97-103, 2002.
61. VANDEN BUSH TJ, ROSENBUSCH RF. Characterization of the immune response to *Mycoplasma bovis* lung infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 94: 23-33, 2003.
62. ROSENGARTEN R, BEHRENS A, STETEFELD A. Antigen heterogeneity among isolates of *Mycoplasma bovis* is generated by high-frequency variation of diverse membrane surface proteins. *Infection and Immunity*, 62: 5066-5074, 1994.
63. BEHRENS A, HELLER M, ROSENBUSCH R, KIRCHHOFF H. Immunoelectron microscopic localization of variable proteins on the surface of *Mycoplasma bovis*. *Microbiology*, 142: 1863-1871, 1996.
64. POUMARAT F, SOLSONA M, BOLDINI M. Genomic, protein and antigenic variability of *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Microbiology*, 40: 305-321, 1994.
65. GOURLAY RN, HOUGHTON SB. Experimental pneumonia in conventionally reared and gnotobiotic calves by dual infection with *Mycoplasma bovis* and *Pasteurella haemolytica*. *Research in Veterinary Science*, 38: 377-382, 1985.
66. CURRIN JF, CURRIN N, WHITTIER WD. *Mycoplasma* in Beef Cattle. Virginia Cooperative Extension Publication, publication no: 400-304, pages 1-4, 2007.
67. HENDERSON JP, BALL HJ. Polyarthritis due to *Mycoplasma bovis* infection in adult dairy cattle in Northern Ireland. *Veterinary Record*, 145: 374-376, 1999.
68. RYAN MJ, WYAND DS, HILL DL, TOURTELOTTE ME, YANG TJ. Morphologic changes following intraarticular inoculation of *Mycoplasma bovis* in calves. *Veterinary Pathology*, 20: 472-487, 1983.
69. ILLING K. Clinical picture of experimental *Mycoplasma bovis* mastitis in cattle. *Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin*, 33: 945-948, 1979.
70. BENNETT RH, JASPER DE. Bovine mycoplasmal mastitis from intramammary inoculations of small numbers of *Mycoplasma bovis*: local and systemic antibody response. *American Journal of Veterinary Research*, 41: 889-892, 1980.
71. KUNKEL JR. Isolation of *Mycoplasma bovis* from bulk milk. *Cornell Veterinarian*, 75: 398-400, 1985.
72. BROWN MB, SHEARER JK, ELVINGER F. Mycoplasmal mastitis in a dairy herd. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 196: 1097-1101, 1990.
73. FEENSTRA A, BISGAARD ME, FRIIS NF, MEYLING A, AHRENS P. A field study of *Mycoplasma bovis* infection in cattle. *Zentralblatt für Veterinärmedizin B*, 38: 195-202, 1991.
74. GONZALEZ RN, SEARS PM, MERRILL RA, HAYES GL. Mastitis due to *Mycoplasma* in the state of New York during the period 1972-1990. *Cornell Veterinarian*, 82: 29-40, 1992.

75. PFÜTZNER H, SACHSE K. *Mycoplasma bovis* as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle. *Revue Scientifique et Technique*, 15: 1477-1494, 1996.
76. IBRAHIM MAR, STIPKOVITS L, BOLDIZSÁR H, VARGA ZS. Amino acid composition and characteristic indices of bovine seminal plasma in case of infection of semen by mycoplasmas. *Acta Veterinaria Hungarica*, 32: 15-21, 1984.
77. KISSI B, JUHÁSZ S, STIPKOVITS L. Effect of mycoplasma contamination of bull semen on fertilization. *Acta Veterinaria Hungarica*, 33: 107-117, 1985.
78. NICHOLAS R, BAKER S. Recovery of Mycoplasmas from Animals. Editors: MILES R, NICHOLAS R, *Methods in molecular biology*, volume 104, *Mycoplasma protocols*, pages 37-44, New Jersey, Humana Press, 1998.
79. THOMAS A, DIZIER I, TROLIN A, MAINIL J, LINDEN A. Comparison of sampling procedures for isolating pulmonary Mycoplasmas in cattle. *Veterinary Research Communications*, 26: 333-339, 2002.
80. TENK M, STIPKOVITS L, HUFNAGEL L. Examination of the role of *Mycoplasma bovis* in bovine pneumonia and a mathematical model for its evaluation. *Acta Veterinaria Hungarica*, 52: 445-456, 2004.
81. TENK M, BÁLINT A, STIPKOVITS L, BIRÓ J, DENCSO L. Detection of *Mycoplasma bovis* with an improved PCR assay. *Acta Veterinaria Hungarica*, 54: 427-435, 2006.
82. DÉNES B, TENK M, TEKES L, VARGA I, FERENCZNÉ IP, STIPKOVITS L. Recognition of multiple *Mycoplasma bovis* antigens by monoclonal antibodies. *Hybridoma and Hybridomics*, 22: 11-16, 2003.
83. GAGEA MI, BATEMAN KG, SHANAHAN RA, VAN DREUMEL T, MCEWEN BJ, CARMEN S, ARCHAMBAULT M, CASWELL JL. Naturally occurring *Mycoplasma bovis* associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18: 29-40, 2006.
84. KHODAKARAM-TAFTI A, LOPEZ A. Immunohistopathological findings in the lungs of calves naturally infected with *Mycoplasma bovis*. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 51: 10-14, 2004.
85. SHAHRIAR FM, CLARK EG, JANZEN E, WEST K, WOBESER G. Coinfection with bovine viral diarrhea virus and *Mycoplasma bovis* in feedlot cattle with chronic pneumonia. *Canadian Veterinary Journal*, 43: 863-868, 2002.
86. BASHIRUDDIN JB, DE SANTIS P, VARGA E, STIPKOVITS L. Confirmation of the presence of *Mycoplasma bovis* in Hungarian cattle with pneumonia resembling pleuropneumonia. *Veterinary Record*, 148: 743-746, 2001.
87. HOWARD CJ, THOMAS LH, GOURLAY RN, TAYLOR G. Vaccination against natural outbreaks of respiratory disease in calves associated with *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma dispar* for the respiratory tract of calves. *Israel Journal of Medical Sciences*, 23: 621-624, 1987.
88. CASWELL CL, ARCHAMBAULT M. *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. *Animal Health Research Review*, 8: 161-186, 2008.
89. LUNA LG. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd edition, McGraw-Hill Book Company, New York, page 220, 1968.

90. BRICE N, FINLAY D, BRYSON DG, HENDERSON J, MCCONNELL W, BALL HJ. Isolation of *Mycoplasma bovis* from cattle in Northern Ireland 1993-1998. *Veterinary Record*, 146: 643-644, 2000.
91. BYRNE WJ, MCCORMACK R, BRICE N, EGAN J, MARKEY B, BALL HJ. Isolation of *Mycoplasma bovis* from bovine clinical samples in the Republic of Ireland. *Veterinary Record*, 148: 331-333, 2001.
92. LE GRAND D, PHILLIPPE S, CALAVALAS D, BEZILLE P, POUMARAT F. Prevalence of *Mycoplasma bovis* infection in France. Editors: POVEDA J, FERNANDEZ A, FREY J, JOHNANSSON KE, *Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics*, volume 5, European Commission, Brussels, pages 106-109, 2001.
93. GAGEA MI, BATEMAN KG, VAN DREUMEL T, MCEWEN J, CARMAN S, ARCHAMBAULT M, SHANAHAN RA, CASWELL JL. Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18: 18-28, 2006.
94. KUSILUKA LJ, OJENIYI B, FRIIS NF. Increasing prevalence of *Mycoplasma bovis* in Danish cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 41: 139-146, 2000.
95. TER LAEK EA, WENTINK GH, ZIMMER GM. Increased prevalence of *Mycoplasma bovis* in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*, 14: 100-104, 1992.
96. GRAND DL, CALAVAS D, BRANK M, CITTI C, ROSENGARTEN R, BE'ZILLE P, POUMARAT F. Serological prevalence of *Mycoplasma bovis* infection in suckling beef cattle in France. *Veterinary Record*, 150: 268-273, 2002.
97. AYLING RD, BASHIRUDDIN SE, NICHOLAS RAJ. *Mycoplasma* species and related organisms isolated from ruminants in Britain between 1990 and 2000. *Veterinary Record*, 155: 413-416, 2004.
98. ADEGBOYE DS, HALLBUR PG, CAVANAUGH DL, WERDIN RE, CHASE CC, MISKIMINS DW, ROSENBUSCH RF. Immunohistochemical and pathological study of *Mycoplasma bovis* associated lung abscesses in calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 7: 333-337, 1995.
99. HOWARD CJ, GOURLAY RN. Immune response of calves following the inoculation of *Mycoplasma dispar* and *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Microbiology*, 8: 45-56, 1983.
100. THOMAS A, SACHSE K, FARNIR F. Adherence of *Mycoplasma bovis* to bovine bronchial epithelial cells. *Microbial Pathogenesis*, 34: 141-148, 2003.
101. BEIER T, HOTZEL H, LYSNYANSKY I. Intraspecies polymorphism of Vsp genes and expression profiles of variable surface protein antigens (Vsps) in field isolates of *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Microbiology*, 63: 189-203, 1998.
102. LE GRAND D, SOLSONA M, ROSENGARTEN R. Adaptive surface antigen variation in *Mycoplasma bovis* to the host immune response. *FEMS Microbiology Letters*, 144: 267-275, 1996.
103. GOURLAY RN, THOMAS LH, WYLD SG. Increased severity of calf pneumonia associated with the appearance of *Mycoplasma bovis* in a rearing herd. *Veterinary Record*, 124: 420-422, 1989.

104. SOKOLOVA IA, VAUGHAN AT, KHODAREV NN. Mycoplasma infection can sensitize host cells to apoptosis through contribution of apoptotic-like endonuclease(s). *Immunology and Cell Biology*, 76: 526-534, 1998.
105. VANDEN BUSH TJ, ROSENBUSCH RF. Characterization of a lympho-inhibitory peptide produced by *Mycoplasma bovis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 315: 336-341, 2004.
106. HOUGHTON SB, GOURLAY RN. Synergism between *Mycoplasma bovis* and *Pasteurella haemolytica* in calf pneumonia. *Veterinary Record*, 113: 41-42, 1983.
107. HAINES DM, MARTIN KM, CLARK EG, JIM GK, JANZEN ED. The immunohistochemical detection of *Mycoplasma bovis* and bovine viral diarrhoea virus in tissues of feedlot cattle with chronic, unresponsive respiratory disease and/or arthritis. *Canadian Veterinary Journal*, 42: 857-860, 2001.
108. AL-HADDAWI M, MITCHELL GB, CLARK ME, WOOD RD, CASWELL JL. Impairment of innate immune responses of airway epithelium by infection with bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 116: 153-162, 2007.

## TEŞEKKÜR

Tez konumun seçilmesi, planlanması, projelendirilmesi, deneylerin gerçekleştirilmesi sırasında karşılaştığım tüm sorunlarda hep yardımcı olan, her konuda bana rehberlik eden sevgili danışmanım Yard. Doç. Dr. İ. Taci CANGÜL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tezimin hazırlanması sırasında yardımlarını esirgemeyen Tez İzleme Komitesi üyesi sayın Prof. Dr. Aysin ŞEN'e çok teşekkür ederim. Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Gürsel SÖNMEZ ve Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. M. Müfit KAHRAMAN ve Prof. Dr. Deniz MISIRLIOĞLU'na bilimsel gelişimime katkılarından dolayı teşekkür ederim. Projede yardımcı araştırmacı olan ve Amerika'dan, literatürler konusunda bana yardımcı olan Yard. Doç. Dr. M. Özgür ÖZYİĞİT'e çok teşekkür ederim. Yine projede yardımcı araştırmacı olan, deneysel aşamadaengin tecrübelerinden yararlandığım, yazım aşamasında sürekli yardımına başvurduğum Araş. Gör. Dr. Ahmet AKKOÇ'a sonsuz teşekkür ederim. Her konuda manevi desteğini esirgemeyen mesai arkadaşım Araş. Gör. Dr. Aylin ALASONYALILAR, aramıza geç katılan ancak hem tezimin deneysel kısmında, hem de yazım aşamasında bana yardımcı olan sevgili mesai arkadaşım Dokt. Öğr. Ezgi AKDEŞİR'e sonsuz teşekkür ederim. Artık emekli olduğu için aramızda olmayan bölüm teknisyenimiz Mehmet Ali KARAHAN'a ve yeni teknisyenimiz Eylem PARLAK'a laboratuvar çalışmaları esnasındaki yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim. Mezbahalardan akciğer dokularının toplanmasında bana yardımcı olan ve mikrobiyolojik incelemeleri yapan sevgili arkadaşım Araş. Gör. Kaan ÖNAT'a teşekkür ederim. Tezimin istatistiksel analizleri kısmında yardımcı olan Araş. Gör. Ender ÇARKUNGÖZ'e çok teşekkür ederim. Tezim için gerekli, eksik malzemelerin temininde büyük yardımları olan Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sema ÖZUYSAL ve öğretim üyesi Prof. Dr. Ömer YERCİ'ye teşekkür ederim. Bilgisayar ile ilgili karşılaştığım problemlerde her zaman rahatlıkla yardım isteyebildiğim Araş. Gör. Dr. İlker ARICAN'a teşekkür ederim. Mesai saatleri dışında, eşinin bana yardım etmesinden dolayı eşinden ayrı geçen uzun saatler için gösterdiği sabırdan dolayı Araş. Gör. Dr. Cansel Güzin ÖZGÜDEN AKKOÇ'a teşekkür ederim. Çalışma hayatım boyunca her zaman beni destekleyen eşim Bestami YILMAZ'a sabrımdan dolayı sonsuz teşekkür ediyorum. Biricik oğlum Mahmut Başar YILMAZ'a çalışmalarım sırasında hayatıma kattığı güzelliklerden dolayı çok teşekkür ederim. Beni bugünlere getiren, her konuda yardımlarını sunan canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Daima desteklerini arkamda hissettiğim eşimin ailesine çok teşekkür ederim.

## **ÖZGEÇMİŞ**

18 Nisan 1975 tarihinde Malatya’da doğdum. İlköğrenimimi Aşağı Güzelyurt İlkokulu’nda, ortaokul ve lise öğrenimini Güzelyurt Lisesi’nde tamamladım. 1995 yılında kazandığım Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nden, 2000 yılında mezun oldum. 2002 yılında Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladım. 2003 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı’nda doktora eğitimine başladım. Evliyim ve bir oğlum var.