

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAYLARDA *RHODOCOCCUS EQUI*
ENFEKSİYONUNUN PATOLOJİK BULGULARI
VE İMMUNOPEROKSİDAZ TEKNİĞİ
İLE TANISI**

Şule Yurdagül ÖZSOY

**PATOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Rifki HAZIROĞLU**

2007 – ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAYLARDA *RHODOCOCCUS EQUI*
ENFEKSİYONUNUN PATOLOJİK BULGULARI
VE İMMUNOPEROKSİDAZ TEKNİĞİ
İLE TANISI***

Şule Yurdagül ÖZSOY

**PATOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Rifkı HAZIROĞLU**

***Bu tez TÜBİTAK (VHAG-2013) ve BİYEP (2005K120140-7) tarafından desteklenmiştir.**

2007 – ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Patoloji Doktora Programı

Çerçevesinde yürütülen bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez savunma tarihi: 23/07/2007

Jüri Başkanı

Prof.Dr. Rıfki HAZIROĞLU
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı (Danışman)

Üye

Prof.Dr. Serdar DİKER
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Üye

Prof.Dr. Osman KUTSAL
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı

Üye

Prof.Dr. Yılmaz AYDIN
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı

Üye

Prof.Dr. M.Yavuz GÜLBAHAR
On Dokuz Mayıs Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	v
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	vii
Çizelgeler	ix
1.GİRİŞ	1
1.1.Hastalığın Tarihçesi	2
1.2.Etiyoloji	3
1.3.Epidemiyoloji	5
1.4.Patogenezis	6
1.5.Hastalıkta Gözlenen Bulgular	9
1.5.1.Klinik Bulgular	9
1.5.2.Patolojik Bulgular	11
1.5.2.1.Makroskobik Bulgular	11
1.5.2.2 Mikroskobik Bulgular	12
1.6.Hastalıkta Tanı ve Ayırıcı Tanı	14
1.6.1.Klinik tanı	14
1.6.2.Bakteriyolojik tanı	15
1.6.3.Serolojik tanı	16
1.6.4.Ayırıcı tanı	16
1.7.Hastalıkta Koruma ve Kontrol	17
1.8.Hastalıkta Sağaltım	18
2.GEREÇ VE YÖNTEM	19
2.1. Klinik İncelemeler	19
2.2. Patolojik İncelemeler	19
2.3. İmmunoperoksidaz Tekniği İçin Ön Çalışmalar	20
2.3.1. Rhodococcus equi'ye karşı hiperimmün serum elde edilmesi	20
2.3.1.1. Antijen hazırlanması	20
2.3.1.2. Antiserum hazırlanması	21

2.4. İmmunoperoksidaz incelemeler	21
2.5. Mikrobiyolojik İncelemeler	23
3. BULGULAR	24
3.1. Klinik Bulgular	24
3.2. Patolojik Bulgular	25
3.2.1. Makroskopik Bulgular	25
3.2.2. Mikroskopik ve İmmunohistokimyasal Bulgular	32
3.3. Mikrobiyolojik Sonuçlar	42
4. TARTIŞMA	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
ÖZET	51
SUMMARY	52
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	59

ÖNSÖZ

Ülkemizde son yıllarda at yetiştiriciliğinin karşılaştığı en önemli enfeksiyonlarından biri olan *Rhodococcus equi* enfeksiyonu, 6 aylıktan küçük taylarda solunum sistemi hastalıklarının en önemli nedenidir. Enfeksiyon taylarda immun sistemlerinin tam gelişmemesi, maternal antikörlerin yetersiz oluşu, viral ya da paraziter nedenlerden dolayı % 80'e kadar varan ölümlere neden olmaktadır. Enfeksiyonda; bazen tek başına ya da solunum sistemi enfeksiyonu ile birlikte bağırsaklarda da lezyonlar şekillenir. Ekonomik değeri yüksek olan bir tayın ölümü ve ileride kazanacağı miktar da göz önünde bulundurulursa bu patojenin neden olacağı kaybın yetiştiriciye verdiği zarar tay başına oldukça yüksek olabilir. Tüm dünyada bu etkenden ileri gelen enfeksiyon bütün yönleriyle ayrıntılı olarak incelenmiştir. Ancak, büyük bir sektör haline gelen, gerek Türkiye Jokey Kulübü, gerekse de özel ve devlet haralarındaki at sayısının gün geçtikçe arttığı Türkiye'de, bu konunun patolojik bulguları üzerinde yeterince durulmadığı gibi tayların *R.equi* enfeksiyonunun tanısı amacıyla da immunoperoksidaz tekniği kullanılmamıştır.

Gerek Doktora eğitimimde, gerek tez çalışmamda çok büyük katkıları ve emekleri olan danışman hocam Sayın Prof.Dr.Rıfki HAZIROĞLU'na; doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerine başvurduğum Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri, Araştırma Görevlileri ve Personeline; immunoperoksidaz çalışmalarında yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Sevil ATALAY VURAL' a, ayrıca tezime yaptıkları katkılardan dolayı Doç. Dr. Oğuz KUL' a, Dr. Zafer ÖZYILDIZ'a, Araş. Gör. Zafer CANTEKİN'e, sevgili eşim Dr. Bülent ÖZSOY' a ve canım oğlum Mim Tuğra ÖZSOY'a teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABC-P	Avidin-Biotin Complex Peroxidase
AEC	Aminoetil karbazol
AGIDT	Agar-jel inhibisyon testi
AIDS	Acquired Immun Deficiency
BHI	Brain-Heart Infusion
ELISA	The Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
HE	Hematoksilen-eozin
IIF	İndirekt İmmunofloresan tekniği
IP	İmmunoperoksidaz
PBS	Phospat Buffer Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
R. equi	Rhodococcus equi

ŞEKİLLER

Şekil 1. Akciğer, olgu no; 1, sol lobus kranialiste 4 x 3 cm çapında, sert, kolay parçalanabilir kıvamlı, sarımtırak boz beyaz renkte kitle.

Şekil 2. Akciğer, olgu no; 7, diffuz dağılımlı, boyutları 2 x 3cm ile 4 x 5.5 cm arasında değişen, sert kıvamlı şişlikler.

Şekil 3. Akciğer, şekil 2'deki kitlenin kesiti; sarımtırak-beyaz renkli, kolayca parçalanabilen kıvamlı odak.

Şekil 4. Mediastinal lenf düğümü, olgu no; 7, şişkin, kesit yüzünde nemli ve yumuşak kıvamda sarımtırak beyaz renkli, kesilirken bıçağa sıvanan materyal.

Şekil 5. Akciğer, olgu no; 8, sağ kranial lobta 1 x 1.5 cm çapında sert yer yer fluktuan kıvamlı, kesit yüzü boz beyaz renkli, homojen ve yağlı görünüşte, çevresinden kapsülle sınırlandırılmış gibi görünen nodül.

Şekil 6. Akciğer, olgu no; 8, sağ kranial lobda 1.5 x 2 cm çapında sert yer yer fluktuan kıvamlı, kesit yüzü boz beyaz renkli, homojen ve yağlı görünüşte, çevresinden kapsülle sınırlandırılmış nodül.

Şekil 7. Mediastinal lenf düğümü, olgu no; 8, şişkin, kesit yüzü nemli ve sarımsı-yeşil renkte.

Şekil 8. Akciğer, olgu no; 10, sağ lobus kranialiste 2.5 x 3 cm çapında, sert, kolay parçalanabilir kıvamlı, sarımtırak boz beyaz renkte kitle.

Şekil 9. Akciğer, şekil 9'daki kitlenin kesiti

Şekil 10. Akciğer, olgu no; 11, diffuz dağılımlı peteşiyel kanama alanları ile kaudal loblarda konsolide alanlar.

Şekil 11. Akciğer, olgu no; 12, çok sert ve peynir kıvamında, çevresi bir kapsülle sınırlandırılmış, yaklaşık 3 x 4 cm boyutlarında kitle. (Formalin tespitinden sonra).

Şekil 12. Akciğer, olgu no; 1, kronikleşen bölgelerde fibrosit, fibroblast ve mononükleer hücre infiltrasyonu, HE X 400.

Şekil 13. Akciğer, olgu no; 1, yangısal bölgelerdeki makrofaj, nötrofil lökosit infiltrasyonu ile alveol duvarlarının nekrozu, HE X 400.

Şekil 14. Akciğer, olgu no; 3, damarlarda şiddetli hiperemi ve perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu, HE X 400.

Şekil 15. Akciğer, olgu no; 4, interalveoler bölgede çok çekirdekli dev hücreleri, makrofaj, lenfosit ve bağ doku hücre artışı, HE X 400.

Şekil 16. Akciğer, olgu no; 5 alveol ve bronşiol lumenleri ile parankimde dökülmüş epitel hücreleri, makrofaj ve diğer yangısal hücreler, HE X 40.

Şekil 17. Akciğer, olgu no; 5 yakından görünüm, HE X 400.

Şekil 18. Akciğer, olgu no; 7, plöra ödem, az sayıda makrofaj, lenfosit ve bağ doku elemanları ile genişlemiş, HE X 400.

Şekil 19. Mediastinal lenf düğümü, olgu no; 7, kortikal sinusta genişleme, lümeninde dökülmüş sinus endotelileri ve az sayıda nötrofil lökosit infiltrasyonu; kortekste lenfoid nekrozlar, HE X 400.

Şekil 20. Akciğer, olgu no; 8, alveoler lümeninde çok çekirdekli dev hücresi ve makrofaj ile lenfositler, HE X 400.

Şekil 21. Akciğer, olgu no; 10, alveol ve bronşiol lümenlerinde mononükleer hücre infiltrasyonu, HE X 100.

Şekil 22. Akciğer, olgu no; 12, alveol lümenlerinde hücre infiltrasyonu yangısal eksudatta hyalinizasyon, HE X 1000.

Şekil 23. Akciğer, olgu no; 12, alveoler eksudatta çok çekirdekli dev hücresi ve mononükleer hücre infiltrasyonu, HE X 400.

Şekil 24. Karaciğer, olgu no; 9, sinuzoidlerde mononükleer hücre infiltrasyonu, megakaryositler ve hepatositlerde nekroz, HE X 40.

Şekil 25. Böbrek, olgu no; 11, intertubuler bölgede mononükleer hücre infiltrasyonu, tubul epitelyumlarında parenkim dejenerasyonu ve glomerulus kapillarlarında bakteri kümeleri, HE X 100.

Şekil 26. Akciğer, olgu no; 3, bronşiol lumeni ve çevresindeki parenkimde bulunan bazı makrofajlarda ip pozitif boyanmalar, ABC-P X 1000.

Şekil 27. Akciğer, olgu no; 5, makrofajlarda ip pozitif boyanmalar, ABC-P X 1000.

Şekil 28. Akciğer, olgu no; 6, damar lümeninde makrofajlar ve nötrofil lökositlerde ip pozitif boyanmalar, ABC-P X 400.

Şekil 29. Akciğer, olgu no; 8, makrofajlarda ve nötrofil lökositlerde ip pozitif boyanmalar, ABC-P X 1000.

Şekil 30. Akciğer, olgu no; 11, makrofajlarda ip pozitif boyanmalar, ABC-P X 1000.

Şekil 31. Akciğer, olgu no; 12, alveoler makrofajlarda ip pozitif boyanmalar, ABC-P X 400.

Şekil 32. Mediastinal lenf düğümü, olgu no; 7, makrofajlarda ip pozitif boyanmalar, ABC-P X 400.

Şekil 33. Olgu no; 8, *Rhodococcus equi* nin kanlı agarda tipik mukoit kolonileri (4 günlük kültür). Pembe renkli pigmentasyon kırmızı renkli geri plandan dolayı kolaylıkla gözlenememekte.

Şekil 34. Olgu no; 11, *Rhodococcus equi*; koloniden Gram (+) kokkal formlar, Gram boyama (x1000).

ÇİZELGELER

Tablo 1. Olgu örnekleri toplama şekli.

Tablo 2. Olgularda gözlenen klinik bulgular.

Tablo 3. Olgularda gözlenen makroskopik bulgular.

Tablo 4. Olgularda akciğerlerde dikkati çeken mikroskopik bulgular.

Tablo 5. Olgularda akciğerlerde ve mediastinal lenf düğümlerinde gözlenen immunoperoksidaz sonuçlar.

1.GİRİŞ

Rhodococcus equi (*R. equi*), makrofajların hücre içi ve fakültatif bir patojenidir (Giguere, 2000; Mariotti ve ark., 2000, Demine, 2003). Normal bağırsak florasında bulunan ve bu nedenle de fırsatçı bir bakteri olan *R. equi*; özellikle 1-6 aylık taylarda irinli bronkopnömoni, mezenterik lenf düğümü yangısı ile ilişkili ülserli enteritis (Giguere, 2000; Özgür ve ark., 2000; Özgür ve Ilgaz, 2000) ve ender olarak da osteomyelitis (Firth ve ark., 1993; Price ve ark., 2003) oluşturmaktadır. *R. equi*; bağışıklık sistemlerinin tam gelişmemesi, maternal antikorların yokluğu yanında viral ya da paraziter enfeksiyonlarla birlikte yeni doğanlarda % 80'e varan yüksek mortalite ile seyredebilir (Riedesel, 1996). Erişkin atlarda enfeksiyona ender olarak rastlanmaktadır (Giguere, 2000; Özgür ve ark., 2002b).

Rhodococcus equi enfeksiyonundan ölen tayların %96'sında; nekropside akciğer lezyonları ile karşılaştığı ve tüm tay pnömonilerinin % 45'inin *R. equi* enfeksiyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir (Zink ve ark., 1986; Wright, 2006).

Enfeksiyonun şekillenmesinde mevsimsel faktörler ön plandadır. Etkenin sıcak havada hızlı çoğalma yeteneğinin yanı sıra rüzgarlı ve tozlu havalarda (Cohen ve ark., 2005) kolayca taşınması enfeksiyona sıklıkla ilkbahar ve yaz mevsimlerinde rastlanmasına neden olmaktadır (Wada ve ark., 1997, Thomas, 2000).

Enfeksiyon sporadik ortaya çıkmakla beraber, belirli çiftliklerde enzootik olarak da görülür (Çetin ve Kahraman, 1997, Özgür ve ark., 2000; Wright, 2006).

Rhodococcus equi; özellikle *Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)* gibi immun sistemi baskılayan bir enfeksiyona sahip insanlarda pnömonilere ve bazen de serebral apselere neden olmaktadır (Linder, 1997; Hawins, 1998; Kedlaya, 2005). İnsanlarda, *R. equi* ile enfekte taylar ile birlikte bulunanlarda enfeksiyondan bahsedildiği gibi; bulaşık topraktan oluşan tozların solunması sonucu da şekillenen enfeksiyonlar bilinmektedir (Cuteri ve ark., 2003).

Rhodococcus equi kısırakların abortus (Szederi ve ark., 2006) ve metritisi, ineklerin metritisi, buzağuların pnömonisi (Hazıroğlu, 2001) ile domuz (Pate ve ark., 2004; Makrai ve ark., 2005) ve sığırların lenf düğümlerindeki tüberkül benzeri lezyonlarıyla da ilişkilidir (Flynn ve ark., 2001). Kedi ve köpeklerde ise subkutan apseler, vaginitis, hepatitis, osteomyelitis, miyozitise neden olur (Cantor ve ark., 1998, Takai ve ark., 2003).

1.1. Hastalığın Tarihçesi

Rhodococcus equi ilk defa 1923'te İsveç'te taylardaki irinli pnömoni olaylarından izole edilmiş ve *Corynebacterium equi* adı verilmiştir (Magnusson, 1923). Morfolojik karakter, lipid karakterleri ve mikolik asit yapılarındaki farklılıkların ortaya çıkmasından dolayı *Goodfellow* ve *Alderson* (1977) *Corynebacterium*'lardan ayrı bir genus içinde *Rhodococcus* olarak klasifiye etmişlerdir.

Türkiye'deki taylardan ilk *R. equi* izolasyonu 1997 yılında Bursa bölgesindeki bir at yetiştirme çiftliğinde irinli pnömoniden ölen bir Arap tayının akciğerinden yapılmıştır (Çetin ve Kahraman, 1997). Aynı sene içinde Sultansuyu Harası'nda yapılan iki Arap tayının nekropsilerinde

enfeksiyonun makroskobik bulguları bakteriyolojik incelemenin de desteği ile ortaya konulmuş ve *R. equi* izole edilmiştir (Karadaş ve ark., 1997).

Türkiye'de ilk virulent *R. equi* izolasyonu ile hastalığın epidemiyolojisi, klinik belirtileri, tanısı, sağaltımı ve kontrolüne yönelik ayrıntılı çalışmalar 2000 yılında yapılmıştır (Özgür ve Ilgaz, 2000). Marmara Bölgesi'nde yarış atı yetiştirilen haralardaki taylarda şekillenen *R. equi* enfeksiyonunun erken tanısında The Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)'in başarılı olduğu ileri sürülmüş ve 2002 yılında Türkiye'de ilk defa 9 yaşlı bir atta virulent suşlar tarafından oluşturulan *R. equi* pnömonisi bildirilmiştir (Özgür ve ark., 2002b).

1.2.Etiyoloji

Rhodococcus equi, Gram-pozitif, sporsuz, hareketsiz, anerobik, fakültatif ve hücre içi bir bakteridir (Demine, 2003). *R. equi*'nin üretildiği ortama göre pleomorfik bir morfolojiye sahiptir. İrinde ve katı ortamda kokoid, sıvı ortamda ise genellikle çomak şeklinde gözlenir (Strausbaugh, 2002). Boyutları 0.8-1.5 mikrometre arasında değişebilir (Kahraman, 1997).

Rhodococcus equi kanlı agarda 37 °C'de 2-3 gün içerisinde non-hemolitik, krema benzeri, mukoid, nemli, parlayan ve pembe koloniler meydana getirir (Takai ve ark., 1991). Sıvı ortamda kolay ürer ve dipte tortu bırakır. Biyokimyasal aktivitesi zayıf bir mikroorganizmadır. Karbonhidratları fermente etmezler; jelatin, indol, pıhtılaşma serum testleri negatiftir. Buna karşın üreaz, lipaz, nitrat, H₂S, katalaz ve proteaz pozitifdir (Kahraman, 1997). *R. equi* kısmen asido-rezistanstır. Bu özelliğinden dolayı *Mycobacterium*'larla karışabilir (AFIP konferansları, 2003a,b).

Rhodococcus equi toprak, dışkı, lenf düğümleri ve bağırsak içeriğinden (çeşitli hayvan türlerinden) izole edilebilir. Bu amaçla nalidiksik asit, novobiosin, sikloheksamidin ve potasyum tellurit katılmış selektif vasatlar kullanılır. *R. equi* ısıya ve bazı kimyasal maddelere orta derecede dayanıklıdır. Isı olarak 60 °C'ye 1 saat dayanır, % 2.5 okzalik asitte 1 saat canlı kalabilir. Diğer bakterilerle bulaşık dokulardan yapılan izolasyonda etkenin bu özelliğinden yararlanır. Etken ampisillin, gentamisin, penisilin, sulfodiazine, tetrasikline ve linkomisine karşı direnç gösterir. Buna karşın mitomisin ve S-florourasile karşı duyarlıdır (Kahraman, 1997).

Rhodococcus'ların, aglutinasyon, komplement fikzasyon, immunodiffüzyon, immunoelektroforezis ve duyarlılık testleri gibi serolojik teknikler kullanarak serolojik incelemeleri yapılmıştır. *R. equi*'nin solunum sisteminin diğer hücre içi patojenlerinden olan *Mycobacterium* ve *Nocardia* cinsleri ile genetik benzerliği olduğu da ortaya konmuştur (Hietala ve Ardans, 1987). Bu cinslerin hepsinin de hücre duvarı mikolik asit içermektedir (Strausbaugh, 2002). *Rhodococcus* spp'leri mikolik asit içeren diğer cinslerden ayırmak için alfa presipitojenler kullanılmaktadır (Kahraman, 1997).

Rhodococcus equi, virulens faktörlerinden biri olan kapsüler polisakkarit antijenleri ile birçok serotipe ayrılmaktadır (Gotoh ve ark., 1991). Bakterinin en son 27 serotipi tespit edilmiştir (Strausbaugh, 2002). Mikroorganizmanın ekzotoksini bulunmamaktadır (Kahraman, 1997).

1.3. Epidemiyoloji

Bir toprak mikroorganizması olan *R. equi* çevrede çok yaygındır (Giguere, 2000; AFIP konferansları, 2003a,b). *R. equi*'nin virüent ve avirüent olmak

üzere iki suşu bulunmaktadır. Taylardaki doğal enfeksiyondan sorumlu virüent *R. equi* suşları 15-17 kDa'lık antijenlere ve 85 ya da 90 kb'lik büyük plazmiden birine sahiptir (Mariotti ve ark., 2000). Avirüent suşlar bu antijen ve plazmidlerden birine sahip değildir ve enfeksiyon şekillendiremezler (Madarame ve ark., 1997). Diğer hücre içi mikroorganizmalara başka türlerin genetik yatkınlığı göz önüne alınırsa; safkan ırklarda *R. equi* 'ye yakalanma oranınının fazlalığı ya da genetik bir yatkınlığın bulunması söz konusu değildir (Cohen ve ark., 2005)

Rhodococcus equi; atların bağırsak florasında kommensal olarak yaşadığından at çiftliklerinin çevresinde etkene bol miktarda rastlanır. Fakat erişkin atlar dışkıları ile çevreye enfeksiyon şekillendiremeyen avirüent suşları yaymaktadır (Özgür ve ark., 2002a). Bununla birlikte *R. equi* ile enfekte taylar dışkıları ile milyonlarca virüent suşları saçtıklarından en önemli enfeksiyon kaynağıdır (Giguere, 2000). Bu nedenle bazı araştırmacılar (Takai ve ark., 1995; Takai, 1997) at ve tay yoğunluğunun fazla olduğu çiftliklerde *R. equi* pnömonisi gelişme olasılığını artırdığını savunurken; Cohen ve ark. (2005) ise bunun enfeksiyon gelişimiyle tam ilişkili olmadığını hatta enfeksiyonun çok da bulaşıcı olmadığını savunmuşlardır.

Etkenin toprakta çoğalmasında çevre ısısının rolü olduğu bilinmektedir (Bradley, 2003). Sıcaklığın arttığı dönemlerde *R. equi* 2 hafta içerisinde dışkıda 10.000 kez çoğalabilmektedir (Giguere ve Prescott, 2002; Piscopo, 2004). Bu nedenle de enfeksiyona sıcaklığın arttığı, havanın kuru ve rüzgarlı olduğu dönem olan ilkbahar mevsiminde daha çok rastlanmaktadır (Wada ve ark., 1997; Thomas, 2000).

Pnömonik enfeksiyon toprakta saprofitik bulunan ve özellikle tozlu çevre ya da padoklarda kolay yayılan *R. equi* yüklü tozların solunmasıyla

olmaktadır (Karadaş ve ark., 1997; Takai ve ark., 2000; Cohen ve ark., 2005).

Sindirim yolu ile bulaşmanın ise; hastalığın bağırsak formu için önemli olduğu bildirilmiştir (Hazıroğlu, 2001). Etkenin deneysel olarak taya larına intragastrik yolla verilmesiyle sindirim sistemi lezyonlarının oluştuğu gözlenir ancak bu yolla tipik solunum sistemi lezyonları oluşturulamamıştır (Johnson ve ark., 1983b).

Hematojen yolla yayılma ise subkutan apse, vertebral osteomyelitis oluşumu ile karaciğer ve böbrek gibi parankim organ lezyonlarının şekillenmesinde önemlidir (Özgür ve Ilgaz, 2000).

Gebe kısıraklarda intrauterin bulaşmadan da bahsedilmektedir (Szederi, 2006). Hayvanlar arasında temas yoluyla bulaşma olduğuna ilişkin bulgu yoktur (Barton ve Embury, 1987).

1.4. Patogenezis

Bazı patojen bakterilerin makrofajlarda yaşama ve gelişme yetenekleri vardır. Bu bakterilere örnek olarak *Nocardia* spp, *Mycobacterium* spp ve hem taya ların hem de insanların önemli patojenlerinden olan *Rhodococcus* spp verilebilir (Aucoin ve Eades, 2002).

Altmış günden küçük taya larında alveoler makrofajların bakterisid etkisi olmadığından (Yager ve ark., 1991), bu yaşlarda *R. equi* enfeksiyonu daha şiddetli seyreder (Özgür ve ark., 2000).

Rhodococcus equi'nin patogenezi tam anlaşılamamıştır (Takai ve ark., 1995; Hazıroğlu, 2001). Havada ve toprakta bulunan virüent *R. equi* yüklü tozların solunmasıyla şekillenen (Karadaş ve ark., 1997; Giguere, 2000) pnömonik formda; bakteri primer olarak alveoler makrofajları enfekte eder (Mangan ve Meijer, 2001). *R. equi* yüzey antijenlerinin fagositik hücrelerdeki iyodinasyon ve oksidasyon reaksiyonlarını baskılama yetenekleri, mikroorganizmanın bu hücrelerde yaşamasına izin vermektedir (Hietala ve Ardans, 1987). Ayrıca; bu kapsüller antijenler lizozom ve fagozom arasındaki füzyonu önleyerek de etkenin makrofajlara yerleşmesine yardımcı olmaktadır (Zink ve ark., 1985).

Rhodococcus equi'nin hücre duvarında bulunan ve glikolipidlerden oluşan mikolik asitin de hücre içi yaşamda ve granülom oluşumunda rolü olduğu düşünülmektedir (Gotoh ve ark., 1991; Strausbaugh, 2002).

Tam açıklanamayan virülens faktörlerinden biri de hücre dışı *equi* faktörler olarak tanımlanan enzimlerdir. Bunlar oksidaz, kolin fosfohidrolaz ve fosfolipaz C gibi ekzoenzimlerdir (Giguere, 2000).

Yapılan çalışmalar, virülensten sorumlu antijenlerin bakterinin hücre duvarından salınımında sıcaklık ve pH'ın rolü olduğunu göstermiştir. Hücreler 34-41 °C'de ve pH 6.5'te üretildiği zaman, hücrelerden yüksek oranlarda antijen salınımının olduğu görülmüştür. Bu da *R. equi*'nin çevresel değişimlere olan yanıtını göstermektedir (Takai ve ark., 1995).

Solunum sistemi lezyonlarında patogenezin araştırılması amacıyla etken intranasal yolla genetik olarak immun yetmezlikli farelere verilmiştir. Komplement yetmezlikli ve normal farelere etkenin verilmesinden 14 gün sonra etken akciğerlerden temizlenmiştir. Fakat immun yetmezlikli farelerin

etkeni öldürme yeteneklerinin kaybolduğu görülmüş, sistemik bakteri çoğalması ve irinli bronkopnömoni oluştuduğu saptanmıştır (Yager ve ark., 1991).

Deneysel çalışmalarda etkenin taylorlara intratrakeal verilmesiyle pnömonik lezyonlar oluşturulmuştur (Barton ve Embury, 1987; Wada ve ark., 1997).

Normal ve atimik kılsız farelere *R. equi* suşları (ATCC 33701 ve plasma kaplı ATCC 33701P⁻) intravenöz yolla verilerek; patolojik ve bakteriyolojik bulgular ile immun yanıt araştırılmıştır. ATCC 33701 verilen T-hücre yetmezlikli farelerde sistemik yangısal yanıtın gittikçe kötüleştiği ve deney sonuna kadar bakteri sayısının arttığı görülmüştür. Normal farelerde ölümlerin yanı sıra; bakteri yüklü makrofajla epitelioid hücrelerin artışına bağlı dalakta büyüme yanında tromboz ve granülom oluşumuna bağlı karaciğer nekrozu gözlenmiştir. Atimik kılsız farelerde ise; karaciğer ve dalakta geçici granülom oluşumu ile bakterilere karşı spesifik antikor oluşumu tespit edilmiştir. ATCC 33701P⁻ suşu verildiğinde ise normal ve atimik kılsız farelerde çok az lezyon oluştuğu ve bakterilere karşı antikor oluşmadığı görülmüştür. Bağışık farelerden kılsız farelere T- lenfosit transferi yapılmış ve granülom oluşumu ile *R. equi*'yi tamamen yok edecek spesifik antikor oluştuğu gözlenmiştir. Sonuç olarak *R. equi* enfeksiyonuna karşı savunmanın; hücre-aracılı bağışıklık ile sağlandığı anlaşılmıştır (Madareme ve ark., 1997).

1.5. Hastalıkta Gözlenen Bulgular

1.5.1. Klinik Bulgular

Rhodococcus equi enfeksiyonunda üç klinik tablo şekillenir bunlar; akut pnömonik form, pyogranülamatöz apselerle karakterize kronik pnömonik form ve mezenterik lenfadenitisle ilişkili bağırsak formudur (Takai ve ark., 1995; Özgür ve ark., 2000; Özgür ve Ilgaz, 2000).

Enfeksiyonun erken dönemi genelde gözden kaçar. Bu dönem; iştahsızlık, ateş yükselmesi, hafif solunum ve sindirim bozuklukları ile karakterizedir (Giguire ve Prescott, 2002). Akut dönemin at sahipleri tarafından fark edilmemesi ya da önemsenmemesi enfeksiyonun ilerlemesine neden olur (Aucoin ve Eades, 2002).

Kronik pnömonik formda; hafif uyuşukluk, solunum güçlüğü, iştah azalması (Thomas, 2000) ve ishalin (Giguire ve Prescott, 2002) yanı sıra şiddetli öksürüğe eşlik eden, vücut ısısındaki artış (41-41.5 °C) ve burun deliklerinin hızla açılıp kapanması ile karakterize (Wright, 2006) solunum sayısında artış (dk'da>40) dikkati çeker (Aucoin ve Eades, 2002). Steteskop olmadan da duyulabilen hırıltılı solunum mevcuttur (Bradley, 2003). Oskültasyonda akciğer sesleri değişir. Genellikle kranioventral yerleşimli lezyonların bulunduğu bölgelerden çıtırtı sesi alınır. Akciğerdeki apselerin yaygınlaştığı şiddetli olgularda ise akciğer sesleri azalır (Özgür ve Ilgaz, 2000). Bazen mukopurulent burun akıntısı da görülebilir (Kahraman, 1997). Klinik olarak ateşin yükseldiği ve şiddetli öksürüğün görüldüğü hayvanların kan muayenelerinde lökosit sayısında artış olduğu saptanmıştır (Takai ve ark., 1995). Sağaltılmayan taylarda siyanoz, kollaps ve ölüm şekillenir (Aucoin ve Eades, 2002).

Bağırsak formu, daha önce solunum enfeksiyonu geçirmiş büyümekte olan taylarda, aktif solunum yolları enfeksiyonlu 2-4 aylık taylarda veya solunum yolları enfeksiyonu olmayan taylarda görülebilir. Kolon ve sekumdaki lenf düğümlerinde apseler şekillendiğinde veya

yaygın kolitis sonucunda klinik olarak ishal gözlenebilir. Taylarda hem solunum sistemi enfeksiyonu hem de ishal görülmesi *R. equi* enfeksiyonunu düşündürür (Harpen, 2003). İshal kanlı ve kronik seyirli olup tanısı zordur (AFIP konferansları, 2003a,b). *R. equi*, pek çok normal atın dışkısında bulunduğundan, mikroorganizma için dışkı kültüründen kesin tanıya varılamaz. Bağırsak formunda gözlenen diğer bulgular; ateş, iştahsızlık ve sancıdır (Özgür ve ark., 2002a).

Etken akciğerden ya da mide-bağırsak sisteminden girerek bakteremi oluşturduktan sonra osteomyelitis (Firth ve ark., 1993; Price ve ark., 2003) ve septik artrit şikillendirebilmektedir (Chaffin ve ark., 1995). Ayrıca intrakranial apse (Janicek ve ark., 2006), subkutan apseler (Perdrizet ve Scott, 1987), hava kesesi amfizemi, perikarditis, nefritis, sinüzitis (Giguere, 2000), selülit (Perdrizet ve Scott, 1987), peritonitis (Hazıroğlu, 2001), panoftalmitis ve uveitis gözlenen diğer bulgular arasındadır (Özgür ve Ilgaz, 2000).

Taylarda her zaman klinik bulgu gözlenmezken, sağlıklı ve iyi kondisyonlu taylarda da ölüm şikillendiği görülür (Thomas, 2000).

1.5.2. Patolojik Bulgular

1.5.2.1. Makroskopik Bulgular

Kısmen atelektazik ve konjesyonlu akciğer kısımları ile ayrılmış çeşitli boyutlardaki çok sayıda sert nodüller bu enfeksiyonun karakteristik makroskopik lezyonlarıdır (Hazıroğlu, 2001). Gözlenen bu nodüller,

nötrofillerden oluşan mikroapselerin genişleyip birleşerek oluşturdukları büyük apse kavitasyonlarıdır (Hawins, 1998).

Yavaş gelişen lezyonlar akciğerin kranioventral bölgelerini tutar; bu nedenle de bronkopnömonik özelliğe sahiptir. Nodüler lezyonlar sınırlı apselerdir. Düzensiz ve daha az sınırlı olanlar ise irinli bronkopnömoni odaklarıdır. Bu odaklar gerçekte yağlı, homojen yapıda ya da sıvı dolu çatlakları olan nemli, parçalanabilir kıvamdaki kazeifikasyon nekroz alanlarıdır ve çoğunlukla da fibröz bir kapsül içermezler (Hazıroğlu, 2001).

Bazı olgularda göğüs boşluğunda 1-1.5 lt'ye varan irinli eksudat birikimine karın boşluğunda fibrinli içerik eşlik eder. Mediastinal lenf düğümleri 2-3 kat şişkin görünüşte olup ödemlidir (Özgür ve Ilgaz, 2000).

Rhodococcus equi enfeksiyonunun bağırsak formu multifokal ülserli enterokolitis ve tiflitis ile mezenterik ve/veya kolonik lenf düğümlerinin granülomatöz ya da irinli yangısıyla karakterizedir (Giguire, 2003). Kalın bağırsak mukozası üzerinde görülen çok sayıda ülserin, ince bağırsak başlangıcına doğru azaldığı görülür. Düzensiz, 1 cm'ye ulaşan, kırmızı tabanlı, kalkık kenarlı ve fibrinle çevrili ülserlerin çoğunluğu ileum ve kalın bağırsaklardaki Peyer plakları üzerindedir (Johnson ve ark., 1983). Mezenterik lenf düğümleri şişkin ve ödemlidir (Hazıroğlu, 2001). Sekum ve kolonları drene eden lenf düğümleri ise çoğunlukla kazeifikasyon nekrozundan oluşan yuvarlak odaklar içerir (Johnson ve ark., 1983b).

Etkenin akciğerden yayılması sonucu, karaciğer ve böbrek gibi parankim organlarında da lezyonlar şekillenebilir (Johnson ve ark., 1983a). Ayrıca ülserli lenfangitis, paravertebral (Chaffin ve ark., 1995) ve subkutan apseler gözlenebilir (Nay, 1996).

1.5.2.2. Mikroskopik Bulgular

Akciğer lezyonları başlangıçta terminal bronşiol ve alveol çevresinde gözlenir. Lezyonlar çoğunluğu makrofajlardan oluşan ve aralarında nötrofil lökositlerin de bulunduğu hücre infiltrasyonu şeklindedir (AFIP konferansları, 2003a,b). Bu odaklarda az sayıda lenfosit ve plazma hücreleri de gözlenebilir (Özgür ve Ilgaz, 2000). Kısa bir süre sonra alveoler eksudatta çok çekirdekli dev hücre sayısı artışı dikkati çeker. Çok sayıda dev hücreleri ve makrofajlar içinde Gram-pozitif mikroorganizmalar fagosit edilmiş durumda görülür (Hazıroğlu, 2001). Nötrofillerde de az sayıda mikroorganizmalara rastlanabilir. İlerleyen aşamalarda nodüler lezyonlar birleşerek pyogranülatöz odakları şekillendirirler (AFIP konferansları, 2003a,b). Bazı alanlarda nötrofil lökositlerin varlığı ile oluşan apse odakları, yer yer yıkılmış ince bir kapsülle çevrili olabilir (Barton ve Embury, 1987). Bazı alveoler septumlarda bakteri yüklü makrofajla diğer hücrelerin nekrozu görülür. Nekroz ilerleyerek akciğerin büyük bir kısmını tutar ve makroskopik olarak da görülebilen kazeo-nekrotik odaklar oluşur (Hazıroğlu, 2001).

Bağırsaktaki histolojik değişiklikler pyogranülatöz, ülserli enteritisle karakterizedir (Nay, 1996). Bazı alanlarda epitele kadar uzanan nekrotik odaklar gözlenir (Mariotti ve ark., 2000). Mezenteriyel lenf folliküllerinde şiddetli lenfoid nekrozlar saptanır (Özgür ve Ilgaz, 2000). Akciğerdeki lezyonlara benzer yangısal hücreler müköz membranlara ve submukozaya infiltre olur (Hazıroğlu, 2001).

Trakea-bronşial, mediastinal ve mezenterik lenf düğümlerinde de tipik pyogranülatöz lezyonlar görülür (Mariotti ve ark., 2000).

Ayrıca, karaciğerde sentrilobüler nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonu ile böbreklerde parankim dejenerasyonları gözlenebilir (Karadaş ve ark.,1997).

İnsanlarda ise histopatolojik olarak; histiyositlerin içerisinde bazofilik, lamellar tarzda kalsifiye olmuş, yoğunluğu az periferik boşluk içeren kristalize merkezli, sitoplazmik cisimler (Michaelis-Gutmann bodies) gözlenmektedir (Kulich ve Pasculle., 2002).

1.6.Hastalıkta Tanı ve Ayırıcı Tanı

Rhodococcus equi'nin tanısı için klinik, bakteriyolojik ve serolojik incelemelerin birlikte yürütülmesi gerekir (Özgür ve Ilgaz, 2000).

1.6.1. Klinik tanı

Rhodococcus equi çok genç tayların hastalığı olduğu için, özellikle ilk üç aya kadar olan taylarda (Özgür ve Ilgaz, 2000) öksürük ve ateş yükselmesi gibi ilk bulgular şekillendiğinde, sahibinin ve veteriner hekimin enfeksiyondan şüphelenmesi gerekmektedir (Aucoin ve Eades, 2002). Fakat klinik tabloya göre hastalığa kesin tanı konulamaz. Endemik enfekte çiftliklerde taylardaki her yüksek ateş ile birlikte öksürüğün *R. equi* tarafından oluşturulduğu düşünülemez. Çünkü; akciğerdeki bozukluklar, ruamın akciğer formuna ve *R. equi*'den daha kolay ve hızlı sağaltılabilen

Streptococcus zooepidemicus enfeksiyonuna benzerlik gösterir (Giguere, 2000).

Enfekte taylarda gözlenen öksürük ve ateş yükselmesi genelde önemsenmediği ya da gözden kaçtığı için enfeksiyon genellikle tayların ölümü ile sonuçlanır (Giguere ve Prescott, 2002). Tanı postmortal muayene ile birlikte bakteriyolojik inceleme yapılarak konulabilir (Özgür ve Ilgaz, 2000). Taylar yaşarken alınan nazo-trakeal aspirat hastalığın tanısında önemlidir (Hashikura ve ark., 2000). Yapılan bir çalışmada (Bohn ve Rothschild, 2002); yüksek ateş, hırıltılı solunum, yürüme isteksizliği, nötrofili ve hiperfibrinojenemi şikayetleri bulunan bir tayda abdominal ultrasyonda karnın sol yarımında su dolu iyi sınırlanmış bir kitle görülmüştür. Bu tayın peritoneal sıvısından yapılan sitolojik muayenede lenfositler, kokal formda bakterileri fagosite etmiş makrofajlar, nötrofil lökositler ile karşılaşmıştır. Klinik bulgular sitolojik bulgularla desteklenerek *R. equi* tanısına gidilmiştir.

Enfeksiyondan şüphe edildiği durumlarda, plazma fibrinojen konsantrasyonu içeren tam kan sayımı yapılması *R. equi*'yi, solunum sisteminde enfeksiyon şekillendiren mikroorganizmalardan ayırmada yardımcı bir yöntemdir. Birkaç olguda normal değerler (Referans aralığı:100-800mg/dL¹) çıksa da (Bohn ve Rothschild, 2002) hiperfibrinojenemi enfeksiyonun en önemli laboratuvar bulgusudur (Giguere, 2000). Tam kan sayımında, monositlerle birlikte veya tek başına nötrofil lökosit artışı (Referans aralığı: 2700-6700 hücre/ μ L) da diğer bir laboratuvar bulgusudur (Takai ve ark., 1995).

1.6.2. Bakteriyolojik tanı

Rhodococcus equi'nin solunum yolunda bozukluk şekillendiren diğer mikroorganizmalardan ayırt edilmesi ve kesin tanısında etken izolasyonu gerekir. Bu amaçla şüpheli taylardan trakeal aspirat kültürü yapılarak *R. equi* izolasyonu yapılabilir (Anzai ve ark., 1997). Daha hızlı tanı amacıyla daha spesifik ve duyarlı bir yöntem olan Polymerase Chain Reaction (PCR)' dan yararlanılmaktadır (Sellon ve ark., 1997, Harrington ve ark., 2005).

Hücre içi bir bakteri olan *R. equi*'nin dokularda gösterilmesinde duyarlılığı yüksek immunolojik tekniklerden de yararlanır (Ishino ve ark., 1992; Madarame ve ark., 1996; Mariotti ve ark., 2000; Szederi ve ark., 2006). Ölümden birkaç saat sonra dokulardan hazırlanan tuşe preparatta ve dondurma kesitleri ile trakeadan alınan aspiratta bakteriler immunolojik tekniklerle tespit edilebilir (Szederi ve ark.,2001). Hastalıklı materyallerden hazırlanan frotiler Gram boyama yöntemi ile boyanarak *R. equi* yönünden incelenir (Özgür ve ark., 2000).

1.6.3. Serolojik tanı

Tayların doğumundan itibaren beş aylık oluncaya kadar iki hafta aralıklarla yapılan immunodiffüzyon testi ile bazen erken tanıda başarılı sonuçlar alınmaktadır. Ancak enfekte tayların çok azı immunodiffüzyon ile belirlenebilecek düzeyde antikor oluşturmaktadır (Giguire ve Prescott, 2002). Hastalığın erken tanısı amacıyla tayların serum örneklerinin ELISA ile incelenmesinden de başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Özgür ve ark., 2002a; Cuteri ve ark., 2003).

1.6.4. Ayırıcı tanı

Streptococcus zooepidemicus, atlarda genellikle üst solunum yollarında bozukluğa neden olur ve irinli burun akıntısı ile karakterizedir (Harpen, 2003). Viral enfeksiyonlar, karışık bakteriyel enfeksiyonlar sonucunda veya strese bağlı olarak da alt solunum yollarında aniden gelişen ve hayvanın asfeksiye bağlı ölümüyle sonuçlanan pnömonilere neden olurlar (AFIP konferansları, 2003a,b).

Ruam, *R. equi*'den klinik olarak; genellikle erişkin atlarda görülmesi, tek taraflı, bol miktarda, kıvamlı, irinli, yeşilimtırak-sarı renkte akıntı bulunması ile ayrılır. Makroskobik olarak ise ruamda nodüler lezyonların akciğerlerin yanı sıra çoğunlukla plöra altına yayılım göstermesi (Hazıroğlu, 2001), baş ve boyundaki lenf düğümlerinde bozukluk bulunması ile ayrılmaktadır (Kahraman, 1997).

Nodüler akciğer lezyonlarının radyografi (Riedesel, 1996) ve tomografi ile tanısına gidilebilir (Wion ve ark., 2001). Kranial mediastinal lenf düğümlerinde büyüme, kauda-ventral konsolide alanlar ile değişen sayıda yumuşak doku kitlelerinin torakal radyografi ile saptanması erken klinik tanıda önemlidir (Riedesel, 1996). Radyografi ve tomografi ile saptanan mediastinal kitleler, tümör ve *S. zooepidemicus* tarafından şekillendirilen apselerle karıştırılabilir. Ancak hayvanın yaşı, laboratuvar bulguları ve antibiyotiklere verdiği yanıt da göz önünde bulundurularak *R. equi* tanısına gidilebilir (Wion ve ark., 2001).

1.7. Hastalıkta Koruma ve Kontrol

Taylara hiperimmün plazma verilerek pasif bağışıklık sağlama çalışmaları yapılmaktadır (Özgür ve Ilgaz, 2000). Taylara intravenöz hiperimmün plazma verilerek sağlanan pasif bağışıklığın endemik çiftliklerde morbidite ve mortaliteyi önemli oranda düşürdüğü yapılan çalışmalarla (Becu ve ark., 1997; Madigan ve ark., 1991) gösterilmiştir. Tayları enfeksiyondan korumada en önemli yolun ise; doğumlarından sonraki ilk 12 saat içinde annelerinden kolostrum almalarının olduğu bildirilmiştir (Harpen, 2003).

Taylar yaşamlarının ilk üç haftasında ve eğer annelerinden kolostrumla antikorlar geçmemişse *R. equi* antikorlarına negatif sonuç verirler. Tayların 30 günlükten itibaren periyodik olarak antikorlara karşı test edilmesi gerekmektedir. Antikor pozitif çıkanların her gün rektal ısıları ölçülmelidir. Ateş ilerleyerek artarsa ve kan testlerinde lökosit sayısında artış (Takai ve ark., 1995) görülürse hemen antibiyotik tedavisine başlanılmalıdır (Thomas, 2000).

Enfeksiyon kaynağı olan enfekte tayların sağlıklı taylardan ayrılması gerekmektedir. Ayrıca *R. equi*'nin sıcak mevsimlerde çoğalma özelliği göz önünde bulundurularak, tay doğumları için kış mevsimi seçilmelidir (Özgür ve ark., 2002a).

En önemli bulaşma kaynağı olan dışkının ortadan kaldırılması, toz partiküllerin bulaşmadaki rolü düşünülerek, havalandırmanın iyi yapılması, zeminin çimento ile kaplanması ve toz oluşumunu önlemek için ıslatılması yerinde olur (Aucoin ve Eades, 2002).

1.8. Hastalıkta Sağaltım

Enfeksiyonun sağaltımında eritromisin ve rifampisinin ağız yolu ile verilmesinde başarılı sonuçlar alınmıştır (Strausbaugh, 2002). Bu kombinasyonun, uzun süren sağaltımlarda bile herhangi bir toksik etkisine rastlanmamıştır. Tam kan sayımında nötrofil lökositler (Referans aralığı: 2700-6700 hücre/ μ L) ve fibrinojen (Referans aralığı: 100-800mg/dL¹) (Bohn ve Rothschild, 2002) normal seviyeye ininceye ve radyografide herhangi bir kitle gözlenmeyene kadar sağaltıma devam edilmesi yerinde olur (Bradley, 2003).

Bu çalışmada taylarda yüksek mortaliteye neden olan *R. equi*'nin patolojik bulgularının ayrıntılı olarak değerlendirilmesi ve enfeksiyonun tanısında immunoperoksidaz tekniğinin kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Klinik İncelemeler

Gerek gözlenen gerekse de çiftlik veteriner hekimlerinden alınan anamnezler eşliğinde klinik bulgular kaydedildi.

2.2. Patolojik İncelemeler

Solunum güçlüğü nedeniyle 2003-2006 yıllarının ilkbahar-yaz aylarında ölen 12 tayıdan 4'nün nekropsisi yapılırken; 8 adet taya ait doku örnekleri ise %10'luk tamponlu formalin solüsyonu içerisinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi (Tablo 1). Ölen her tayan nekropsisine at yetiştirme çiftliklerinin uzak olması nedeniyle otolitik değişiklikler şekillenmeden önce yetiştiremeyeceği düşünüldü. Bu amaçla kurum veteriner hekimleriyle temasa geçildi ve ölen hayvanlara ait doku örneklerinin gönderilmesi için uygun şartlar hazırlandı. Nekropsisi yapılan tayıların başta solunum ve sindirim sistemi olmak üzere tüm organları %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Toplam 12 adet taya ait doku örnekleri bilinen yöntemlerden geçirilerek parafinde bloklandı ve 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler rutin hematoksil-eozin (HE) ile boyandı. Dokulardaki bakteriyel yapıları saptamak için Avidin Biotin Complex- Peroxidase (ABC-P) metodu kullanıldı. Gerekli görülenlere ise etkenlerin demonstre edilebilmesi amacıyla Gram ve Ziehl-Neelsen gibi histokimyasal boyama metodları uygulandı. Hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda değerlendirilerek mikrofotografı çekildi.

Tablo 1. Olgu örnekleri toplama şekli.

Olgu No	Nekropsisi Yapılan	At Sağlanan Örnekleri	Çiftliklerinden Doku
1	+		
2			+ (Akciğer)
3			+ (Akciğer)
4			+ (Akciğer)
5			+ (Akciğer)
6			+ (Akciğer)
7			+ (Akciğer ve mediastinal lenf düğümü)
8	+		
9			+ (Akciğer ve karın boşluğundan kitle)
10	+		
11	+		
12			+ (Akciğer ve karaciğer)

2.3. İmmunoperoksidaz Tekniği İçin Ön Çalışmalar

2.3.1. *Rhodococcus equi*'ye karşı hiperimmün serum elde edilmesi

2.3.1.1. Antijen hazırlanması

İmmunizasyon antijeninin hazırlanmasında 15-17 kDa'lık antijene ve 85 kb tip 1 virülens plazmid içeren suş Doç. Dr. Yakut Özgür'den (İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bağcılar/İstanbul) sağlandı. Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda liyofilize suşun üretilmesi için katı ve sıvı besi yerinden yararlanıldı. Nalidiksik asit, novobiosin, siklohegzamidin ve potasyum tellurit katılmış selektif mediumlar ile katı besi yeri olarak Brain-Heart Infüsyon (BHI) agar kullanıldı. Suş 5 günlük 38 °C'de BHI'de inkubasyonundan sonra santrifüj edildi. Santrifüjden 2 gr alındı ve %0.1 Tween 20 içeren 10 ml 0.0125 M sodyum fosfat buffer (pH 7.4) ile süspanse edildikten sonra ve 37 °C'lik su banyosunda 90 dakika süreyle 20.000 g'de santrifüje bırakıldı. Üst sıvı alındı, karbonat-bikarbonat

buffer (pH 9.6) ile 1 Mg protein/ml olacak şekilde ayarlandı ve antijen olarak kullanıldı.

2.3.1.2. Antiserum hazırlanması

İmmünizasyon amacıyla 2 adet, 2 yaşlı, dişi, Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Eşit oranlarda Freund adjuvanı ile karıştırılan konsantre antijen 2 ml miktarında deri altı yolla tavşanlara enjekte edildi. İlk enjeksiyondan 21 gün sonra birer hafta ara ile 3 kez 0.5'er ml adjuvansız konsantre antijen damar içi yolla verildi. Son enjeksiyondan 7 gün sonra tavşanların kanları alındı. Kanlar 37 °C'de 1 saat ve 4°C'de bir gece tutulduktan sonra 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum -20 °C'de saklandı ve serum agar-jel inhibisyon testi (AGIDT) ile kontrol edildi (AGIDT: 1/200+++).

2.4. İmmunoperoksidaz İncelemeler

Toplanan materyallerden hazırlanan parafin kesitlerde *R. equi* antijenlerin varlığını ve yerleşimini belirlemek için Avidin-Biotin Complex Peroxidase (ABC-P) metodu kullanıldı (Universal Antirabbit Kit, DAKO, 015-000-001). Test kit içerisinde önerilen standart prosedüre göre yapıldı. *R. equi* 'ye karşı hazırlanan hiperimmün serumlar testlerden önce aynı yöntemle titre edildi ve çalışmalarda 1/300 sulandırılmaları kullanıldı. Testte kontrol olarak "phosphat buffer saline" (PBS, pH:7.4) ve normal tavşan serumundan yararlanıldı.

Standart prosedür

On iki olgunun akciğer doku örneklerine ve üç olgunun (Olgu no:7, 8, 11) mediastinal lenf düğümüne ait parafin bloklarından, histopatolojik incelemede olduğu gibi, hazırlanan kesitler; eter-alkol (1:1) karışımında temizlenmiş ve dokunun yapışması için Poly-L-lysin'le kaplanmış lamlara alındı. 30 dakika 45 °C'lik etüvde kurutuldu. Ksilollerde deparafinize edilip; 100, 96, 80 ve 70'lik alkol serilerinden de geçirilerek dehidre edildi. İşlemler sırasında doku kesitlerinin kurummasını engellemek için inkübasyonlar, nemli kamarada ve oda ısısında yapıldı. İnkübasyonlardan sonra kesitlerin yıkama işlemlerinde PBS kullanıldı ve her yıkama işlemi, 5 dakika süreyle yapıldı. Antikorlar ve kullanılan kimyasal maddeler kesitlerin üzerini kapatacak şekilde uygulandı. Endojen peroksidazı bastırmak için kesitler, % 3'lük hidrojen peroksitte 5 dakika tutuldu. Daha sonra PBS ile 3 kez yıkandı ve kesitlerin kenarları silinerek PBS'in fazlası alındı. Kesitler üzerine normal keçi serumu konularak (bloking reagent) 20 dakika 45°C'lik etüvde bekletildi. Kesitler üzerine primer antikor olarak kullanılan ve tavşandan elde edilen *anti- Rhodococcus equi* hiperimmün serumu (AGIDT: 1/200+++) 1/300 oranında sulandırılarak 60 dakika inkübe edildi. Serumun fazlası dökülerek kesitler PBS ile 3 kez yıkandı ve kenarları silindi. Kesitler üzerine biyotinlenmiş sekonder antikor konularak 20 dakika inkübe edildi. Serumun fazlası dökülerek kesitler PBS ile 3 kez yıkandı ve kenarları silindi. Strept-Avidin peroksidaz kompleks ile 20 dakika inkübe edilen kesitler, PBS ile 3 kez yıkandı ve kenarları silindi. Kromojen olarak aminoetil karbazol (AEC) (5 ml deionize su, 2 damla konsantre bufer, 2 damla % 3'lük hidrojen peroksit ve 2 damla konsantre 3-amino-9-etilkarbazol karışımı) kullanıldı. AEC solusyonu içinde 7 dakika tutulup 2 kez 5 dakika deionize sudan geçirildi; Mayer'in hematoksilin boyasında 1 dakika karşıt boyamaya tabi tutulup çeşme suyu altında yıkandı; üzerlerine jelatinli yapıştırıcı damlatılarak lamelle kapatıldı.

İmmunoperoksidaz yöntemine göre bu şekilde hazırlanan doku kesitler oda sıcaklığında muhafaza edildi. Sonuçların değerlendirilmesi Olympus

ışık mikroskopu (CX21 model-CX21FS1 220-240 V) yardımıyla yapıldı ve mikroskopik fotoğrafları çekildi.

2.5. Mikrobiyolojik İncelemeler

Çoğu nekropsi materyali formalin solüsyonu içerisinde ulaştırıldığından veya saha çalışmaları esnasında mikrobiyolojik inceleme için uygun şartlar oluşturulamadığından her taydan etken izolasyonu için örnek alınmadı. Taze veya soğuk zincir altında gönderilen  olguya ait (Olgu no:8, 10, 11) doku örnekleri (akciğer, mediastinal lenf düğümü, karaciğer, dalak, kalp) mikrobiyolojik olarak değerlendirildi.

Laboratuvara gönderilen doku örneklerine ilk olarak Gram boyama yapıldı. Gram pozitif omak şekilli etkenlerin varlığının tespitinden sonra izolasyon için kanlı agara ve Gram negatif etkenlerin belirlenmesi için MacConkey agara ekimler yapılarak, besiyerleri aerobik şartlarda 37 °C de 24 saat inkübe edildi. Üreme görülen saf kolonilerden alınarak Gram boyaması yapıldı. Görülen Gram pozitif kokkal formlu etkenlere biyokimyasal testler (β - hemoliz, esklin hidroliz, nitrat redüksiyon, üreaz, kazein sindirimi; glikoz, maltoz, sukroz) uygulandı. Elde edilen bulgularla etkenin makroskopik ve mikroskopik morfolojisi değerlendirildi.

3. BULGULAR

3.1. Klinik Bulgular

Materyal temin etmek amacıyla at yetiştirme çiftliklerinde bulunan sürede ölen bir tayın (Olgu no:1) nekropsisi yapıldı. Olgu 1’de ölmeden önce yüksek ateş (41 °C rektal ısı), şiddetli öksürük ve solunum güçlüğü bulguları gözlemlendi.

Nekropsisi kurum veteriner hekimlerince yapılarak formalin solüsyonu içerisinde gönderilen İngiliz ırkı 7 adet tayda (Olgu no: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 12) ölmeden önce yüksek ateş, öksürük ve solunum güçlüğü bulguları gösterdiği bildirildi.

Olgu 8 ve 10’da de benzer klinik bulgular gözlemlendi. Olgu 9’ da ise sürekli yüksek ateş görülmesi nedeniyle şüphelenilerek 3 aydır *R. equi* tedavisine başlanıldığı ve ölmeden önce son dönemlerde gözlerinde korneal ülser ile eklemlerinde şişlik olduğu belirtildi. Olgu 11 ise güç solunum şikayetiyle solunum durması sonucu öldü.

On iki olguda görülen klinik bulgular Tablo 2’de özetlendi.

Tablo 2. Olgularda gözlenen klinik bulgular

Olgu No	İrk	Yaş	Cinsiyet	Yüksek ateş	Klinik bulgular	
					Öksürük	Solunum güçlüğü
1	İngiliz	4 aylık	Dişi	+	+	+
2	İngiliz	2 aylık	Dişi	+	+	+
3	İngiliz	3 aylık	Dişi	+	+	+
4	İngiliz	2 aylık	Erkek	+	+	+
5	İngiliz	2.5 aylık	Dişi	+	+	+
6	İngiliz	3 aylık	Erkek	+	+	+
7	İngiliz	1.5 aylık	Dişi	+	+	+
8	Arap	5 aylık	Dişi	+	+	+
*9	İngiliz	6 aylık	Dişi	+	-	-
10	Arap	7 aylık	Dişi	+	+	+
11	İngiliz	3 günlük	Erkek	-	+	+
12	İngiliz	4 aylık	Erkek	+	+	+

*Korneal üser ve eklem şişliği gözlenmiştir.

3.2. Patolojik Bulgular

3.2.1. Makroskobik Bulgular

En önemli makroskobik lezyonların ortaya konduğu solunum sisteminde; çoğunlukla akciğerler şişkin ve koyu kırmızı renkliydi. Birçok alanda kısmen konjesyonlu ve atelektazik akciğer bölümleri ile sınırlandırılmış, değişen büyüklüklerde sarımtırak-boz beyaz renkli, sert, yer yer yumuşak kıvamlı kitlelere rastlandı. Akciğerlerin kesit yüzlerinde ise; parankime doğru yayılan yer yer birbirleriyle birleşik ya da tek bir nodül şeklinde, boz beyaz renkli alanlar dikkati çekti. Bronş ve bronşiol lümenlerinden ise köpüklü, yer yer de kanlı seröz bir sıvı sızılmaktaydı.

Bir nolu olguda sol lobus kranialiste 4 x 3 cm (Şekil 1), 10 numaralı olguda ise sağ lobus kranialis'te 2.5 x 3 cm boyutlarında (Şekil 8, 9), sert, kolay parçalanabilir kıvamlı, sarımtırak boz beyaz renkte kitleler dikkati çekerken diğer parankim organlarında ise herhangi makroskobik bir bulgu görülmedi. Olgu 8'in akciğerleri incelendiğinde; sağ kranial lobda 2 adet,

1.5 x 2 cm (Şekil 5) ve 1 x 1.5 cm (Şekil 6) büyüklüğünde sert yer yer fluktuan kıvamlı, kesit yüzü boz beyaz renkli, homojen ve yağlı görünüşte, çevresinden kapsülle sınırlandırılmış nodül dikkati çekti. Olgu 11'in akciğerlerinde diffuz dağılımlı peteşiyel kanama alanları ile kaudal loblarda konsolide alanlar görüldü (Şekil 10).

At çiftliklerinden sağlanan doku örneklerinden (Olgu no:2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 12) olgu 2'nin akciğerinde kranioventral yerleşimli, 2 x 3 cm boyutlarında, homojen, yağlı görünüşte, apse görüldü. Olgu 7'nin akciğerinde ise diffuz dağılımlı, boyutları 2 x 3cm ile 4 x 5.5 cm arasında değişen, sert kıvamlı şişliklere (Şekil 2) kesit atıldığında sarımtırak beyaz renkli, kolayca parçalanabilen kıvamdaki kitleler (Şekil 3) ile karşılaşıldı. Olgu 12'nin akciğerlerinin sağ kranial lobunda, çok sert ve peynir kıvamında, çevresi bir kapsülle sınırlandırılmış, yaklaşık 3 x 4 cm boyutlarında kitlenin bulunduğu (Şekil 11) dikkati çekti. Dört olguda (Olgu no: 3, 4, 5, 6) önemli bir makroskobik bulguya rastlanılmadı. Olgu 9'da ise; makroskobik olarak karın boşluğunda 13 x 10 x 4 cm büyüklüğünde bir kitle bulunduğu; akciğerlerde peteşiyel kanama alanları dışında diğer parenkim organlarında herhangi bir bulgu fark edilmedi.

Olgu 7,8 ve 11'in mediastinal lenf düğümleri genel olarak şiş ve kesit yüzleri nemliydi. Ayrıca; olgu 7'nin kesitinde nemli ve yumuşak kıvamda sarımtırak beyaz renkli, kesit yapılırken bıçağa yapışan içerik dikkati çekerken (Şekil 4); olgu 8'in kesitinde sarımsı- yeşil renk (Şekil 7), olgu 11'in kesitinde ise kanama alanları fark edildi.

Üç olguda (Olgu no:8, 11, 12) karaciğerde şişkinlik, kenarlarında kütleleşme ve kesit yüzlerinden bol miktarda kan sızması görüldü. Olgu 8'de böbreklerde büyüme, bağırsakların subserozal damarlarında dolgunluk ve lümeninde sarı sulu renkte içerik ile mukozada hiperemi mevcuttu. Olgu

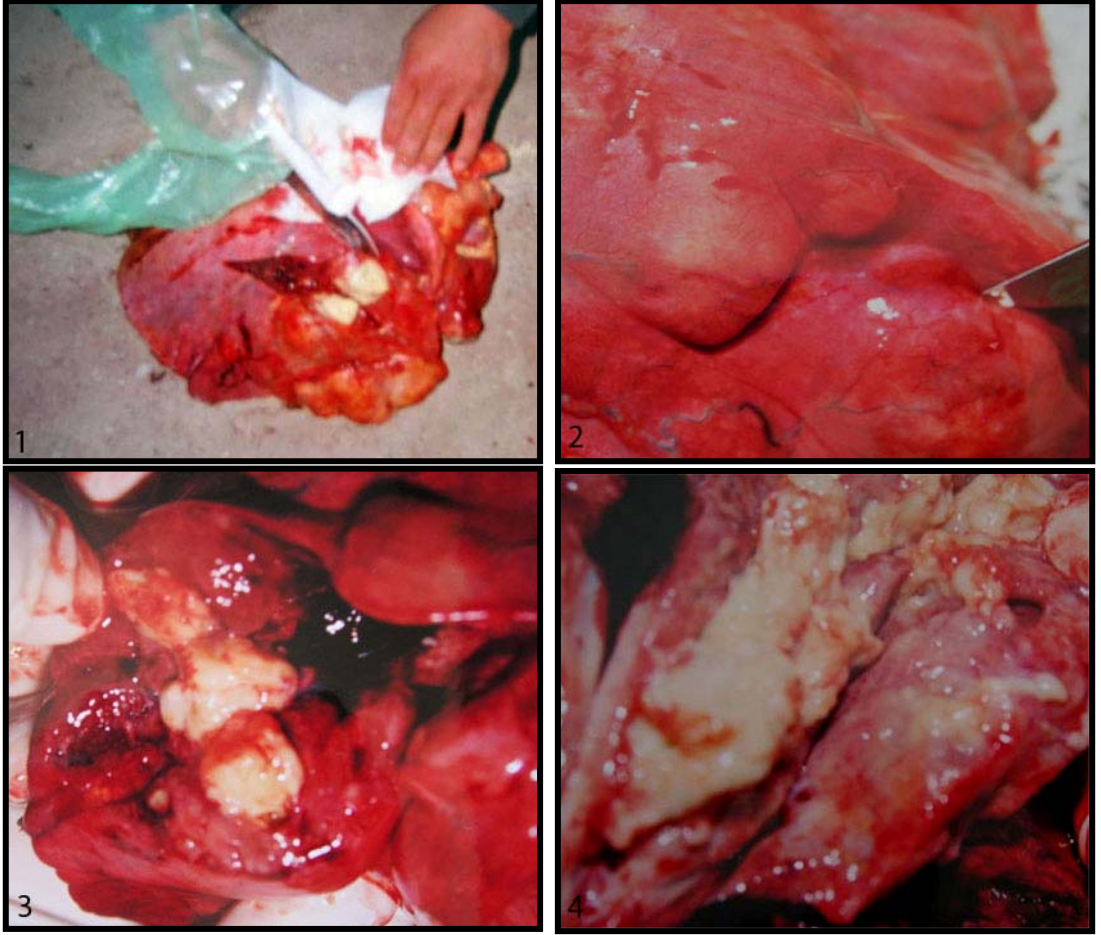
11'de böbreklerin özellikle korteksinde toplu iğne başı büyüklüğünde diffuz dağılımlı beyaz renkte odaklar ve kalpte diffuz dağılımlı peteşiyel kanama alanları dikkati çekti.

Olgularda gözlenen makroskobik bulgular Tablo 3'te özetlendi.

Tablo 3. Olgularda gözlenen makroskopik bulgular.

Olgu No	Akciğerlerde nodülün yerleşimi/Diğer lezyonlar	Nodülün kıvamı/Kesitinin rengi	Nodülün boyutu	Mediastinal lenf düğümü	Bağırsak	Karaciğer	Böbrek	Kalp
1	Sol lobus kranialis	Sert, kolay parçalanabilir kıvam/ sarımtırak boz beyaz renk	4x3 cm	-	-	-	-	-
2	Kranioventral		2x3 cm	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Diffuz	Sert kıvam/ sarımtırak beyaz renkli, kolayca parçalanabilen	2x3 cm ile 4x5.5 cm arasında değişen	Şiş, kesit yüzü nemli ve yumuşak kıvamda, sarımtırak beyaz renkli, kesit yapılırken bıçağa yapışan içerik	-	-	-	-
8	Sağ lobus kranialis	Sert yer yer fluktuan kıvam/ boz beyaz renkli, homojen ve yağlı görünüşte, çevresinden kapsülle sınırlanmış	1.5x2 cm ve 1x1.5 cm	Şiş, kesit yüzleri nemli ve sarımsı-yeşil renkte	Subserozal damarlar dolgun ve lumeninde sarı sulu renkte içerik ile mukozada hiperemi	Şiş, kenarları küt ve kesiti kanlı	Büyümüş	-
9	Peteşiyel kanama alanları	-	13x10x4 cm*	-	-	-	-	-
10	Sağ lobus kranialis	Sert, kolay parçalanabilir kıvam/ sarımtırak boz beyaz renk	2.5x3 cm	-	-	-	-	-
11	Kaudal loblarda konsolidasyon ve diffuz peteşiyel kanama alanları	-	-	Şiş ve kesit yüzleri kanamalı	-	Şiş, kenarları küt ve kesiti kanlı	Kortekste toplu iğne başı büyüklüğünde diffuz dağılımlı beyaz renkte odaklar	Diffuz peteşiyel kanama alanları
12	Sağ lobus kranialis	Çok sert ve peynir kıvamı, çevresi bir kapsülle sınırlanmış	3x4 cm	-	-	Şiş, kenarları küt ve kesiti kanlı	-	-

* Karın boşluğunda

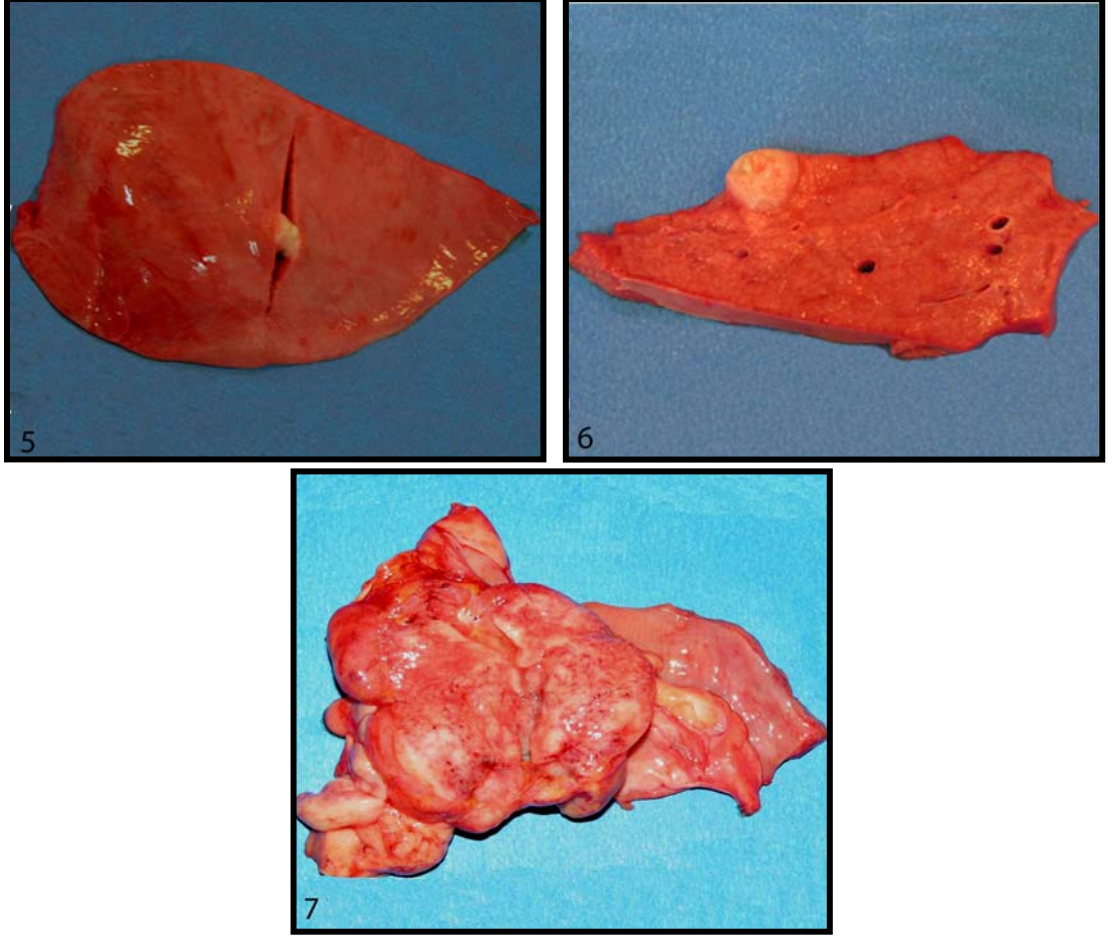


Şekil 1. Akciğer, olgu no; 1, sol lobus kranialiste 4 x 3 cm çapında, sert, kolay parçalanabilir kıvamlı, sarımtırak boz beyaz renkte kitle.

Şekil 2. Akciğer, olgu no; 7, diffuz dağılımlı, boyutları 2 x 3 cm ile 4 x 5.5 cm arasında değişen, sert kıvamlı şişlikler.

Şekil 3. Akciğer, şekil 2'deki kitlenin kesiti; sarımtırak-beyaz renkli, kolayca parçalanabilen kıvamlı odak.

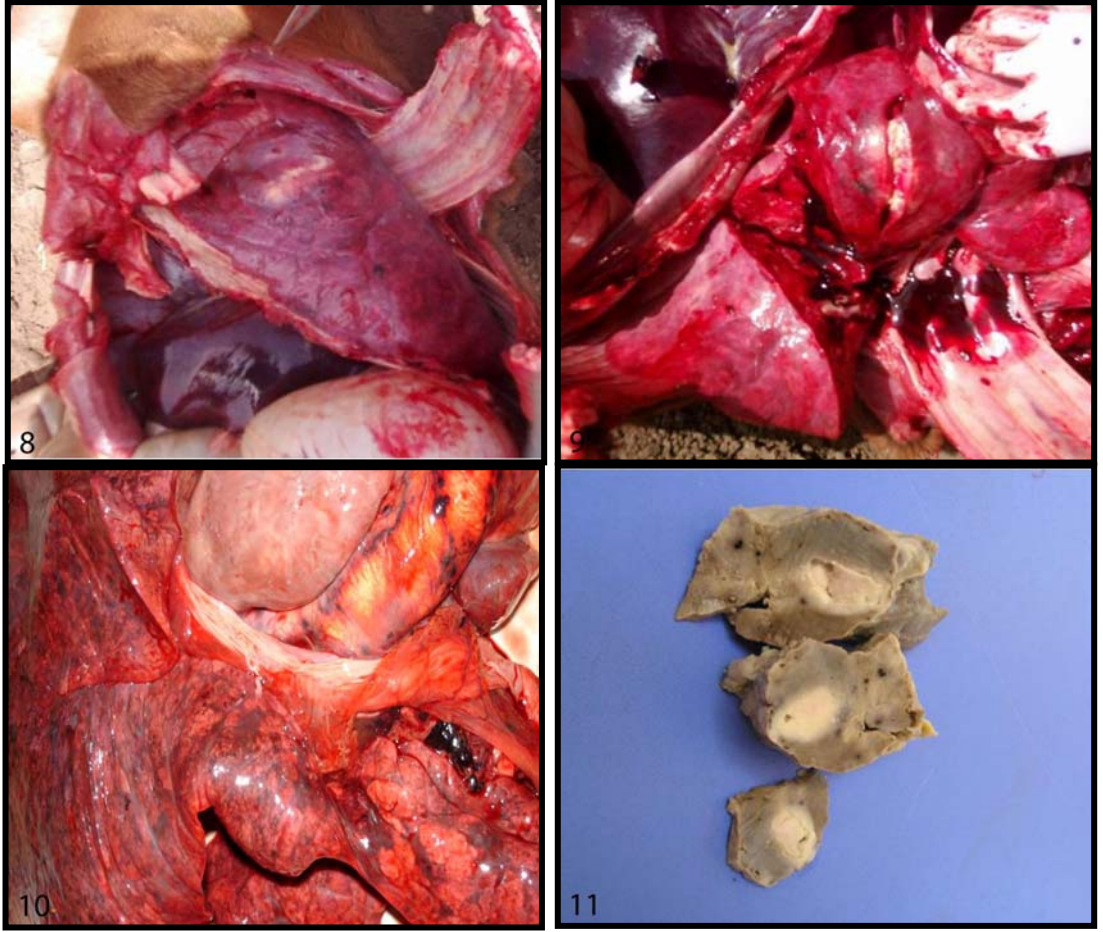
Şekil 4. Mediastinal lenf düğümü, olgu no; 7, şişkin, kesit yüzünde nemli ve yumuşak kıvamda sarımtırak beyaz renkli, kesilirken bıçağa sıvayan materyal.



Şekil 5. Akciğer, olgu no; 8, sağ kranial lobta 1 x 1.5 cm çapında sert yer yer fluktuan kıvamlı, kesit yüzü boz beyaz renkli, homojen ve yağlı görünüşte, çevresinden kapsülle sınırlanmış nodül.

Şekil 6. Akciğer, olgu no; 8, sağ kranial lobda 1.5 x 2 cm çapında sert yer yer fluktuan kıvamlı, kesit yüzü boz beyaz renkli, homojen ve yağlı görünüşte, çevresinden kapsülle sınırlanmış nodül.

Şekil 7. Mediastinal lenf düğümü, olgu no; 8, şişkin, kesit yüzü nemli ve sarımsı-yeşil renkte.



Şekil 8. Akciğer, olgu no; 10, sağ lobus kranialiste 2.5 x 3 cm çapında, sert, kolay parçalanabilir kıvamlı, sarımtırak boz beyaz renkte kitle.

Şekil 9. Akciğer, şekil 9'daki kitlenin kesiti

Şekil 10. Akciğer, olgu no; 11, diffuz dağılımlı peteşiyel kanama alanları ile kaudal loblarda konsolide alanlar.

Şekil 11. Akciğer, olgu no; 12, çok sert ve peynir kıvamında, çevresi bir kapsülle sınırlandırılmış, yaklaşık 3 x 4 cm boyutlarında kitle. (Formalin tespitinden sonra).

3.2.2. Mikroskopik ve İmmunohistokimyasal Bulgular

Çoğunlukla tipik bronkopnömoni tablosunu yansıtan akciğerlerde; damarlarda değişen derecede hiperemi (Olgu no: 3, 5, 7, 9, 11, 12) yanında yer yer trombotik kitle (Olgu 12) gözlendi. Alveolleri tamamen dolduran makrofaj ve nötrofil lökositlere bazı bronş ve bronşiol lümenleri ile damar çevrelerinde de rastlandı (Şekil 16, 17, 21). Bu yangısal hücre infiltrasyonu olgu 3 ve 6'da daha hafif şiddetteydi ve olgu 3'te özellikle perivasküler yerleşimliydi (Şekil 14). Kimi olgularda (Olgu no:1, 2, 5, 12) alveoler septumlarda makrofajlar, nötrofil lökositler ve alveol duvarlarının nekrozu (Şekil 13) ile alveol lümenlerindeki yangısal eksudatta hyalinizasyon (Olgu no: 12) (Şekil 22) göze çarptı. Olgu 1, 4 (Şekil 16), 8 (Şekil 18) ve 12'de (Şekil 23) yangı tablosuna çok çekirdekli dev hücrelerinin eşlik ettiği görüldü. Olgu 1 (Şekil 12) ve 4'te interalveoler bölgelerin bağ doku elemanlarıyla genişlediği fark edildi. Genel olarak alveollerden bazıları atelektazik, bazıları amfizematik görünümde idi. Bazı alveol lümenlerinde de pembe homojen renkli ödem ile serbest eritrositler dikkati çekti. Bronş ve bronşiol mukoza epitellerinin yer yer hiperplaziye uğradığı yer yer de lümene döküldüğü saptandı (Olgu no: 5, 8). Olgu 4'te peribronşiyoler lenf follikülleri hiperplazikti. Olgu 8'de plörada ödem, olgu 7'de ise ödemle birlikte az sayıda makrofaj, lenfosit ve bağ dokusu elemanları gözlendi (Şekil 18).

Akciğer kesitlerine yapılan immunoperoksidaz (IP) boyamalarda yoğun yangısal alanların çevresinde bulunan alveol lümenlerini doldurmuş makrofaj ve nötrofil lökositlerin sitoplazmasında *R. equi* antiserumuna karşı pozitif boyanmalar saptandı (Şekil 26, 27, 28, 29, 30, 31).

Mediastinal lenf düğümleri incelenen taylarda (Olgu no:7, 8, 11) damarlarda hiperemi dışında, kortikal ve medullar sinusların genişlediği, lümenlerinde dökülmüş sinüs endotel hücreleri ile çoğunlukla

makrofajlardan oluşan aralarında nötrofil lökosit ve lenfositlerin de bulunduğu hücre infiltrasyonu göze çarptı. Lenf follikülleri hiperplazikti. Yedinci olguda bunlara ek olarak lenf folliküllerinde lenfoid nekrozlar dikkati çekti (Şekil 19).

Olgu 7'nin mediastinal lenf düğümüne yapılan immunoperoksidaz boyamalarda medullar sinuslardaki makrofajların sitoplazmasında kullanılan *R.equi* antiserumuna karşı immun pozitif boyanmalar saptandı (Şekil 32).

Sadece olgu 8'de bağırsakların lamina propria'sında makrofaj ve lenfositlerden oluşan mononükleer hücre infiltrasyonu ile karakterize subakut enteritis gözlenirken diğer olgularda herhangi bir değişiklik dikkati çekmedi.

Parankim organları incelendiğinde; 8., 9., 11. ve 12. olgularda karaciğerde vena sentralis, vena interlobularis ve sinuzoidlerin genişlemiş olduğu ve içlerinin eritrositlerle dolu olduğu görüldü. Remark kordonlarının düzenini kaybettiği, sinus endotellerinin şişkinleştiği ve Kupffer hücrelerinin belirginleştiği görüldü. Beş olguda (Olgu no: 8, 9, 10, 11, 12) bu bulguların yanı sıra, karaciğer epitel hücrelerinin şişkinleşip yuvarlaklaştığı, sitoplazmalarının granüler bir görünümde olduğu saptandı. Parankim dejenerasyonuna ek olarak hücrelerin bazılarının sitoplazmasında ise vakuollerin bulunduğu gözlemlendi. Olgu 9 ve 12'de ise sinuzoidlerin ödem ve makrofaj, lenfosit, tek tük nötrofil lökosit infiltrasyonu ile genişlediği görülürken bir olguda (Olgu no:9) yangısal hücrelere ek olarak megakaryositler ile hepatositlerde nekroz dikkati çekti (Şekil 24).

Olgu 8 ve 10'un böbreklerinde tubulus epitelleri şişkin olup sitoplazmaları homojen pembe renkli ve granüler görünümde idi. Bazı alanlarda ise tubulus epitelleri tamamen nekroze olmuş ve tubulus lümenine dökülmüş durumda idi. Yer yer tubul lümenleri ve Bowman boşluklarında pembe homojen renkte proteinöz materyal birikimi mevcuttu. Olgu 11' de intersitisyumda geniş alanlar halinde nötrofil lökosit, makrofaj, lenfosit infiltrasyonu ile serbest eritrositler gözlenirken, bu hücre birikimlerinin ortalarında ve glomerulus kapillarlarında pembe-mavi renkte, bulutumsu tarzda bakteri kümeleri saptandı (Şekil 25).

Olgu 11' de akciğerde bazı alveol lümenleri ve damarlarda, böbreklerde ise glomerulus kapillarlarında gözlenen bakteri kümelerinin gösterilmesi amacıyla Brown-Brenn Gram ve Ziehl-Neelsen boyaları yapıldı. Mavi-mor renkte boyanan bakterilerin gram pozitif etkenler olduğu ortaya kondu.

Ayrıca olgu 9'da karın boşluğundan gönderilen kitlenin incelemesinde kronik granülasyon dokusu ile karşılaşıldı. Olgu 11'de ise kalp kasında damarlarda hiperemi ve kas demetleri arasında eritrosit kümeleri gözlenen ek bulguydu.

Genel olarak olgularda akciğerlerde dikkati çeken mikroskopik bulgular Tablo 4'te; akciğer ve mediastinal lenf düğümlerinde gözlenen IP boyanmalar ise Tablo 5'te özetlendi.

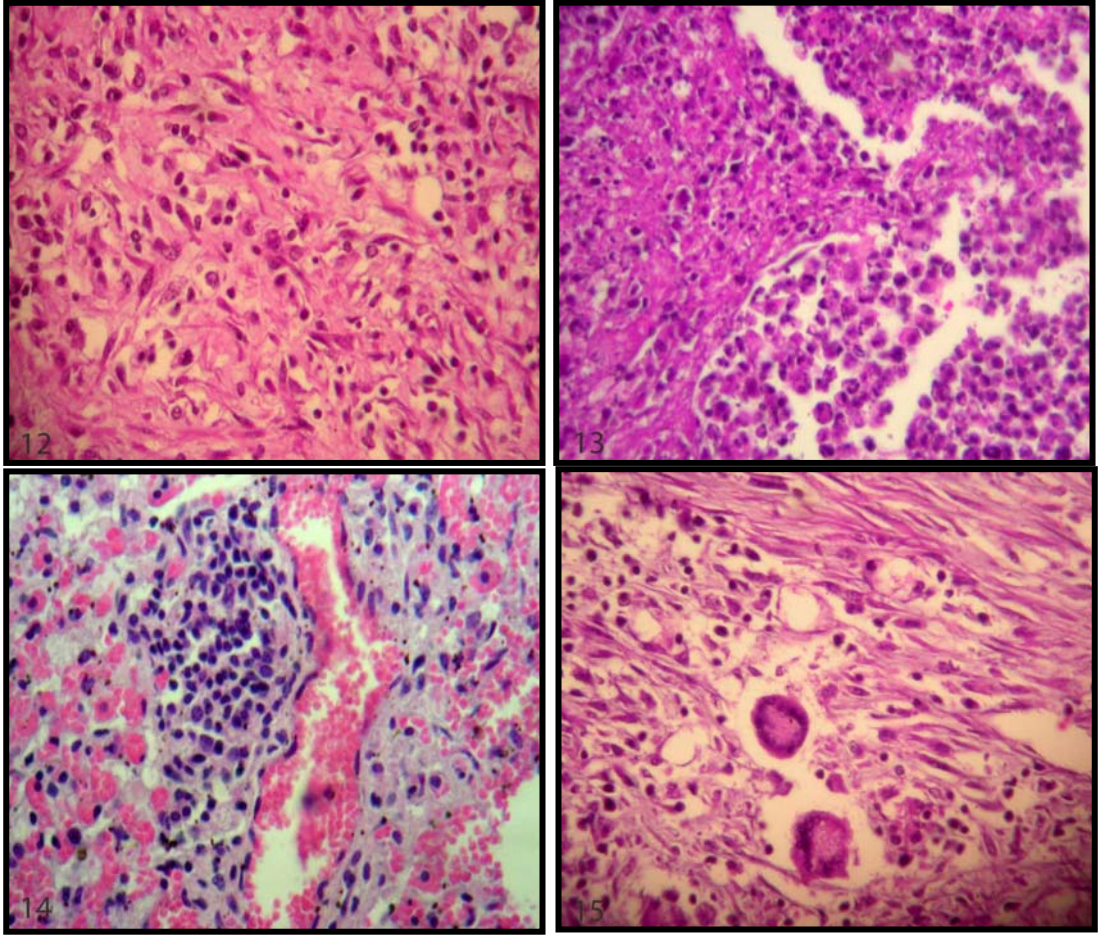
Tablo 4. Olgularda akciğerlerde dikkati çeken mikroskopik bulgular.

Olgu No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Damar lezyonları:												
*Hiperemi	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
*Tromboz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
*Vaskülitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yangısal hücre infiltrasyonu												
*Makrofaj	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
*Nötrofil lökosit	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-
*Lenfosit	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
*Bağ doku elemanları	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Yangısal hücrelerin yerleşimi												
*Alveol												
*Bronş	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
*Bronşiol	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+
*Perivasküler	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
Şiddeti												
*Yaygın												
*Hafif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Yangısal hücre nekrozu	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
Alveol duvarı nekrozu	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
Dev hücre oluşumu	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
Plörada yangı ödem												
	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-

Tablo 5. Olgularda akciğerlerde ve mediastinal lenf düğümlerinde gözlenen immunoperoksidaz sonuçları.

Olgu No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Akciğerler	++	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+
Mediastinal lenf düğümleri	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

-: Negatif +: Zayıf ++: Güçlü

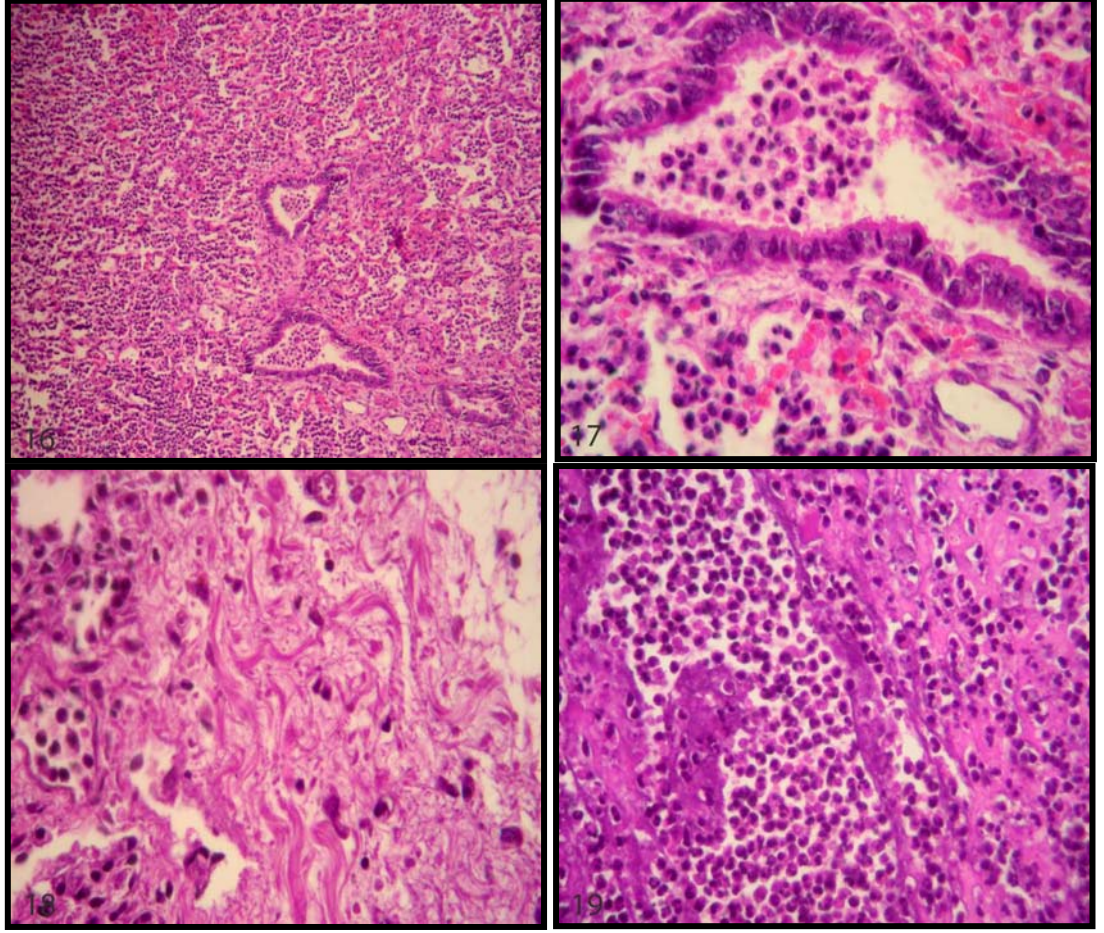


Şekil 12. Akciğer, olgu no; 1, kronikleşen bölgelerde fibrosit, fibroblast ve mononükleer hücre infiltrasyonu, HE X 400.

Şekil 13. Akciğer, olgu no; 1, yangısal bölgelerdeki makrofaj, nötrofil lökosit infiltrasyonu ile alveol duvarlarının nekrozu, HE X 400.

Şekil 14. Akciğer, olgu no; 3, damarlarda şiddetli hiperemi ve perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu, HE X 400.

Şekil 15. Akciğer, olgu no; 4, interalveoler bölgede çok çekirdekli dev hücreleri, makrofaj, lenfosit ve bağ doku hücre artışı, HE X 400.

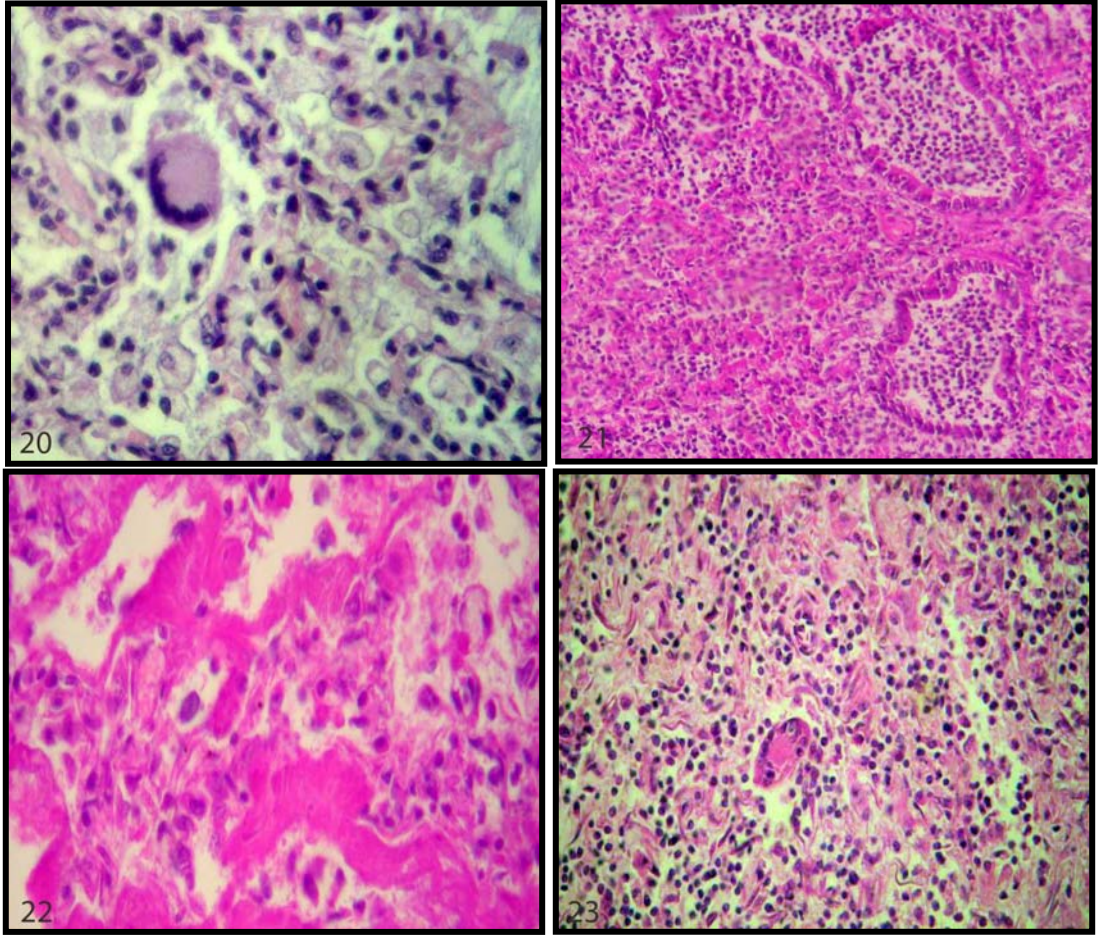


Şekil 16. Akciğer, olgu no; 5 alveol ve bronşiol lumenleri ile parankimde dökülmüş epitel hücreleri, makrofaj ve diğer yangısal hücreler, HE X 40.

Şekil 17. Akciğer, olgu no; 5 yakından görünüm, HE X 400.

Şekil 18. Akciğer, olgu no; 7, plöra ödem, az sayıda makrofaj, lenfosit ve bağ doku elemanları ile genişlemiş, HE X 400.

Şekil 19. Mediastinal lenf düğümü, olgu no; 7, kortikal sinusta genişleme, lümeninde dökülmüş sinus endotelleri ve az sayıda nötrofil lökosit infiltrasyonu; kortekste lenfoid nekrozlar, HE X 400.

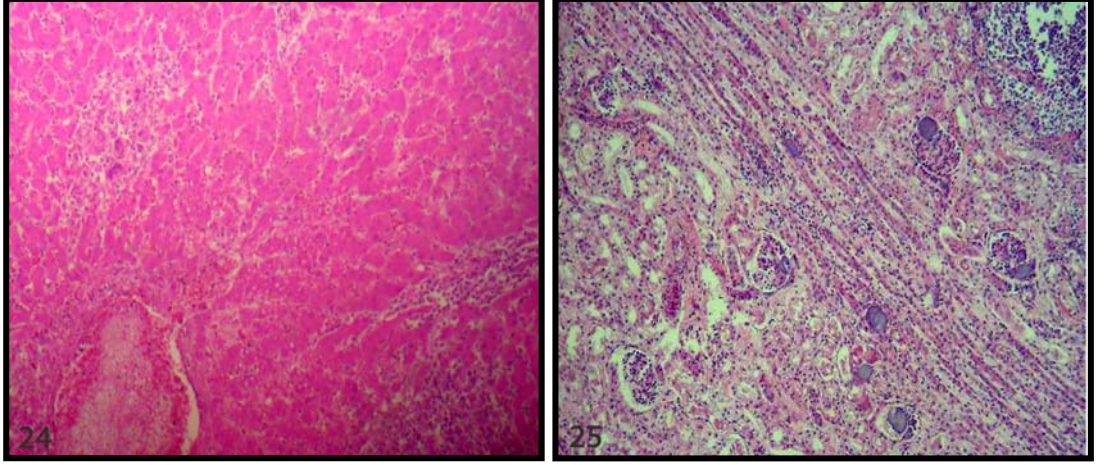


Şekil 20. Akciğer, olgu no; 8, alveoler lümeninde çok çekirdekli dev hücresi ve makrofaj ile lenfositler, HE X 400.

Şekil 21. Akciğer, olgu no; 10, alveol ve bronşiol lümenlerinde mononükleer hücre infiltrasyonu, HE X 100.

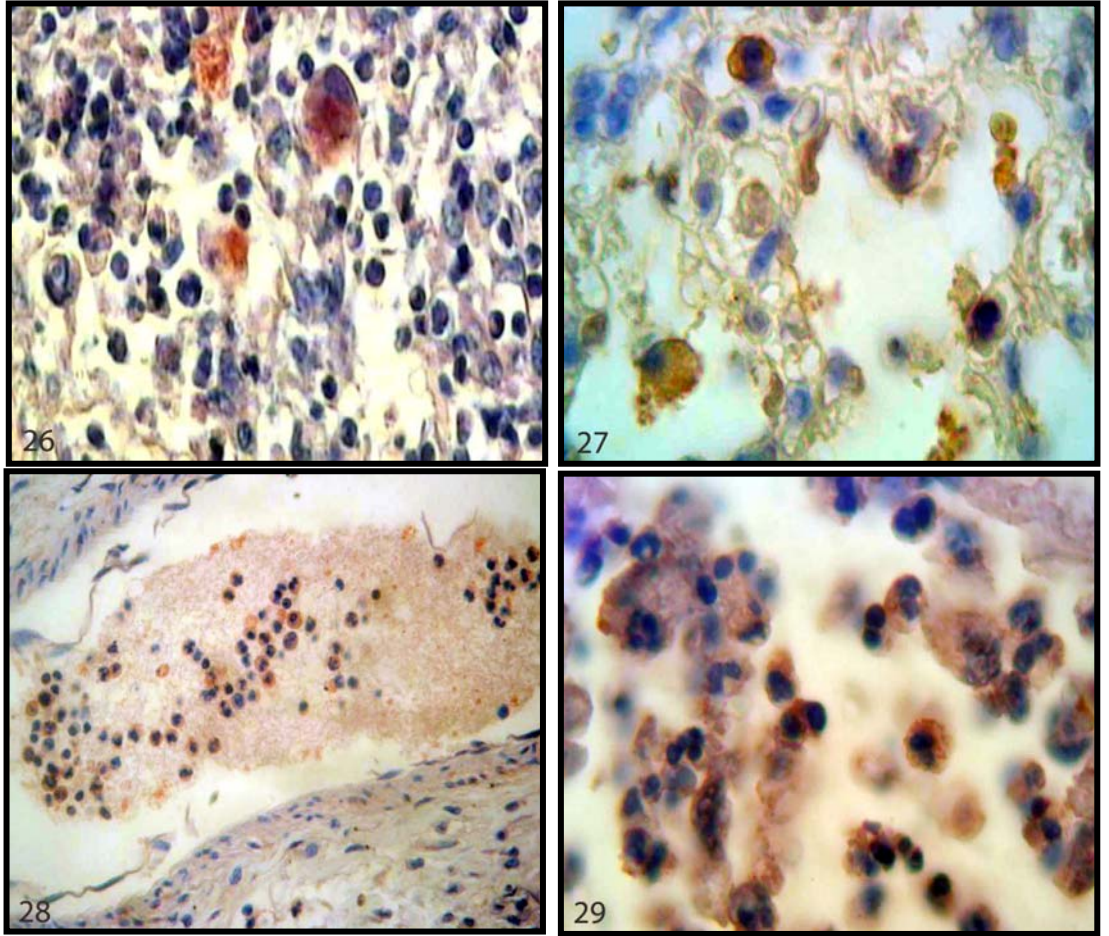
Şekil 22. Akciğer, olgu no; 12, alveol lumenlerinde hücre infiltrasyonu yangısal eksudatta hyalinizasyon, HE X 1000.

Şekil 23. Akciğer, olgu no; 12, alveoler eksudatta çok çekirdekli dev hücresi ve mononükleer hücre infiltrasyonu, HE X 400.



Şekil 24. Karaciğer, olgu no; 9, sinuzoidlerde mononükleer hücre infiltrasyonu, megakaryositler ve hepatositlerde nekroz, HE X 40.

Şekil 25. Böbrek, olgu no; 11, intertubuler bölgede mononükleer hücre infiltrasyonu, tubul epitelyumlarında parankim dejenerasyonu ve glomerulus kapillarlarında bakteri kümeleri, HE X 100.

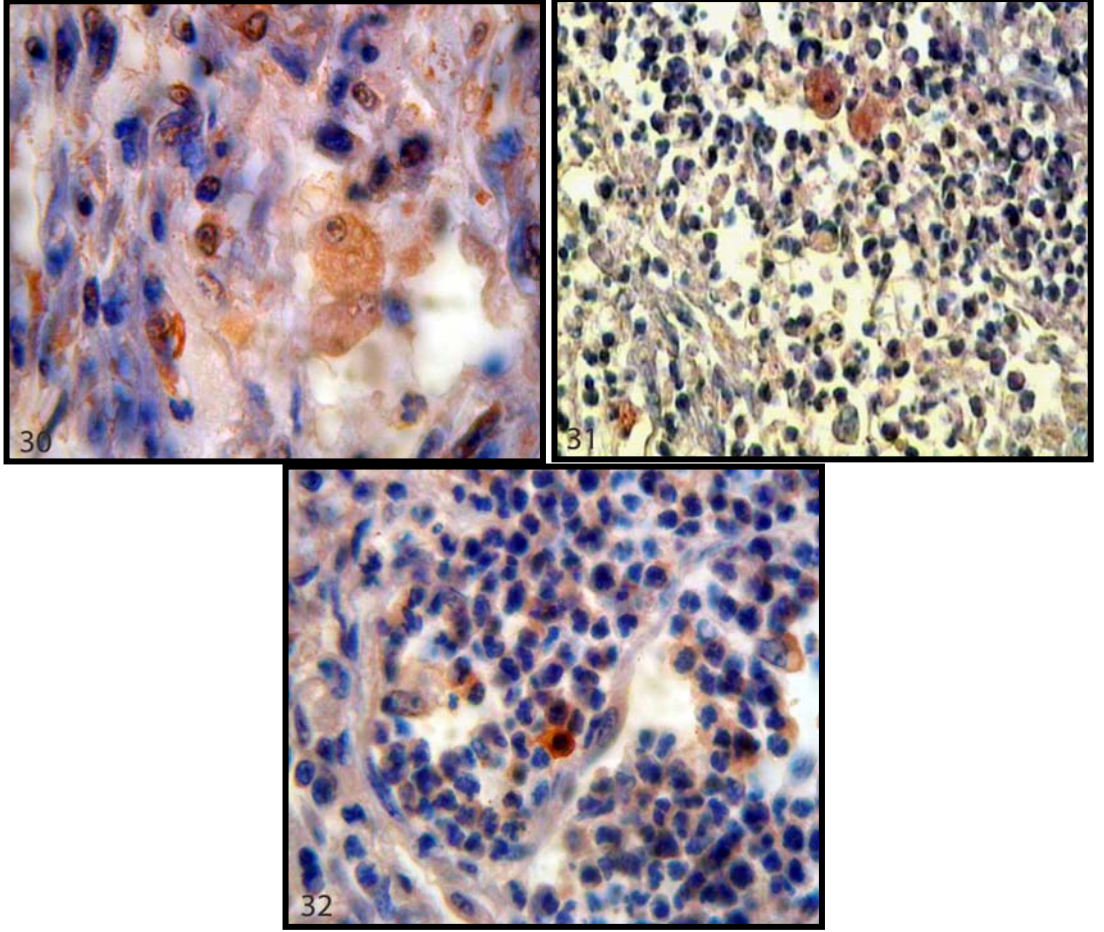


Şekil 26. Akciğer, olgu no; 3, bronşiol lumeni ve çevresindeki pareankimde bulunan bazı makrofajlarda IP pozitif boyanmalar, ABC-P X 1000.

Şekil 27. Akciğer, olgu no; 5, makrofajlarda IP pozitif boyanmalar, ABC-P X 1000.

Şekil 28. Akciğer, olgu no; 6, damar lümeninde makrofajlar ve nötrofil lökositlerde IP pozitif boyanmalar, ABC-P X 400.

Şekil 29. Akciğer, olgu no; 8, makrofajlarda ve nötrofil lökositlerde IP pozitif boyanmalar, ABC-P X 1000.



Şekil 30. Akciğer, olgu no; 11, makrofajlarda IP pozitif boyanmalar, ABC-P X 1000.

Şekil 31. Akciğer, olgu no; 12, alveoler makrofajlarda IP pozitif boyanmalar, ABC-P X 400.

Şekil 32. Mediastinal lenf düğümü, olgu no; 7, makrofajlarda IP pozitif boyanmalar, ABC-P X 400.

3.3. Mikrobiyolojik Sonuçlar

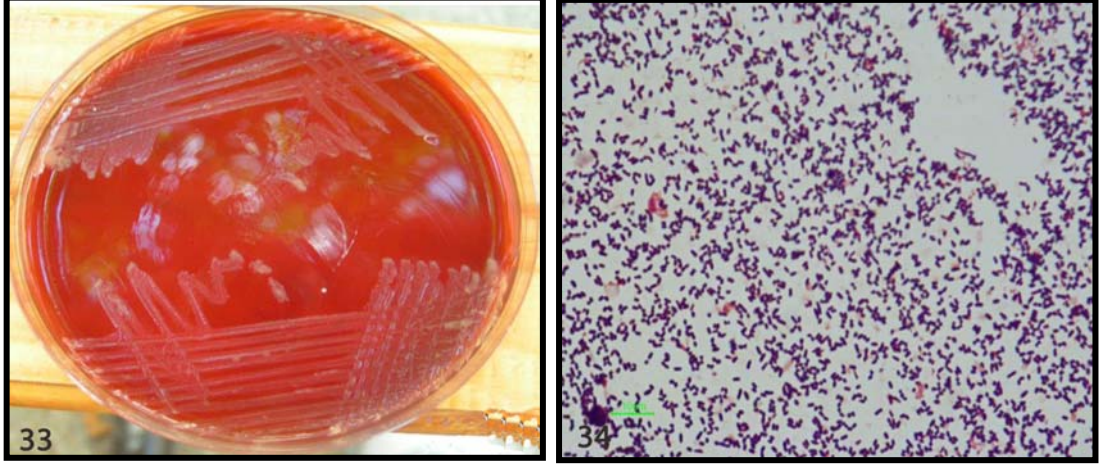
Doku örneklerinden ilk yapılan Gram boyama ile yaygın olarak Gram pozitif omak Őekilli etkenlerin varlığı tespit edildi. İnkübasyon sonunda MacConkey agarda üreme görülmezken, kanlı agarda saf olarak üreme görüldü. Saf kolonilerden alınarak Gram boyaması yapıldı ve görülen Gram pozitif kokkal formlu etkenler biyokimyasal testler sonucunda *R. equi* olarak identifiye edildi.

Biyokimyasal Testler: β - hemoliz (-), esklin hidroliz (-), nitrat redüksiyon (+), üreaz (+) (>18 saat), kazein sindirimi (-), glikoz (-), maltoz (-), sukroz (-).

Makroskobik morfoloji; kanlı agarda ilk 24 saate kadar küçük, S tipli parlak ve non-hemolitik koloniler daha ilerleyen zamanlarda (4 gün) mukoid ve büyük forma dönüŐtü. Pembe renkli pigmentleŐme kırmızı renkli geri plandan dolayı kolay seçilemedi.

Mikroskobik morfoloji; kolonilerden yapılan Gram boyamada Gram pozitif kokkal formlar baskın Şekilde gözlendi.

Sonuçta; toplam 12 olgudan 3 tanesine (Olgu no: 8, 10, 11) ekim yapıldı. olgu 8 (Şekil 33) ve 11'e (Şekil 34) ait doku örneklerinden *R. equi* izole edilirken; olgu 10'dan ise üreme olmadı.



Şekil 33. Olgu no; 8, *Rhodococcus equi*' nin kanlı agarda tipik mukoit kolonileri (4 günlük kültür). Pembe renkli pigmentasyon kırmızı renkli geri plandan dolayı kolaylıkla gözlenememekte.

Şekil 34. Olgu no; 11, *Rhodococcus equi*; koloniden Gram (+) kokkal formlar, Gram boyama (x1000).

4. TARTIŞMA

Çalışmada, taylarda *R. equi* enfeksiyonunun patolojik bulguları makroskobik ve mikroskobik olarak değerlendirildi. Doku kesitlerinde *R. equi* antijeninin varlığının ve yerleşimlerinin saptanması için immunoperoksidaz tekniği kullanıldı.

Rhodococcus equi enfeksiyonunun ortaya çıkmasında yaş, mevsim ve barınma koşullarının hastalığın oluşumuna yatkınlık sağladığı bilinmektedir. Bağışıklık sistemlerinin tam gelişmemesi, maternal antikörlerin yetersiz alınımı veya eşlik eden viral ya da paraziter enfeksiyonlardan oluşan yatkınlık, yeni doğanlarda % 80'e varan ölümlere neden olmaktadır (Riedesel, 1996). Ayrıca etken, 6 aylıktan küçük taylarda görülen pnömonilerin en önemli nedenidir (Aucoin ve Eades, 2002; Piscopo, 2004). Etkenin sıcak havada hızlı çoğalma yeteneğinin yanı sıra rüzgarlı ve tozlu havalarda (Cohen ve ark., 2005) kolayca taşınması enfeksiyona sıklıkla ilkbahar ve yaz mevsimlerinde rastlanmasına neden olmaktadır (Wada ve ark., 1997). Çalışmada incelenen tayların yaşlarının üç günlük ile 7 aylık arasında olması ayrıca ölümlerin Nisan-Ağustos arasında şekillenmesi enfeksiyonun ortaya çıkışında yaş ve mevsim faktörlerinin rol oynadığı görüşünü destekler niteliktedir.

Ölen taylarda genel klinik bulguların yüksek ateş (41-41.5 °C), öksürük ve solunum güçlüğü olması bu konuda çalışmalar yapan araştırmacıların (Takai ve ark., 1995; Bradley ve ark., 2000; Özgür ve Ilgaz, 2000; Aucoin ve Eades, 2002) bulguları ile benzerlik göstermektedir. Diğerlerinden farklı olarak, 9 numaralı olguda ölüm öncesi son dönemde gözlerde korneal ülser ile eklemlerde şişlik görülmüştür. Bu da etkenin akciğerden ya da mide-bağırsak sisteminden girerek bakteriyemi

oluşturduktan sonra şekillendirdiği klinik bulguları açıklayan literatürle (Chaffin, 1995; Giguere, 2000; Özgür ve Ilgaz, 2000) uyumludur.

Enfeksiyonda en önemli bulaşma şekli solunum yoluyla olanıdır (Takai ve ark., 1995). Toprakta saprofit olarak bulunan *R. equi* ile yüklü tozların solunması pnömonik enfeksiyonun şekillenmesinde rol oynayan önemli bir faktördür (Giguere, 2000). *R. equi* enfeksiyonundan ölen taylarda, olguların % 96'sında; nekropside akciğer lezyonları ile karşılaştığı (Zink ve ark., 1986) ve tüm tay pnömonilerinin % 45'inin *R. equi* enfeksiyonuna bağlı olduğu bildirilmektedir (Wright, 2006). Akciğer lezyonlarının genellikle sağ loblarda şekillendiği (Hillidge, 1986), yavaş gelişen lezyonların kranioventral bölgeleri tuttuğundan bahsedilmektedir. Sınırlı apseler olan nodüllerin gerçekte yağlı, homojen yapıda ya da sıvı dolu çatlakları olan nemli, parçalanabilir kıvamdaki kazeifikasyon nekroz alanları olduğu bilinmektedir (Hazıroğlu ve Milli, 2001). Çalışmada ise, solunum sistemi bulguları göstererek ölen 12 tayda da değişen derecede akciğer lezyonları mevcuttu. Literatürde (Hillidge, 1986) belirtildiği gibi lezyonların çoğu akciğerlerin sağ lobunda (Olgu no:8, 10, 12) şekillenmişti. 3 farklı olguda ise lezyonların sol kranial (Olgu no:1), kranioventral (Olgu no:2) ve diffuz yerleşimi (Olgu no:7) gözlenen nodüllerin de sarımtırak beyaz renkli, kolayca parçalanabilen kıvamda olduğu görüldü. Bazı olgularda (Olgu no:3, 4, 5, 6) akciğerde makroskobik bulgu şekillenmezken, bazılarında (Olgu no:9,11) ise sadece konjesyon ya da konsolidasyon fark edildi. Bu da enfeksiyonun hızla şekillenip perakut formda ölümlere neden olabileceği düşüncesini doğurdu. Onbir numaralı olgudan mikrobiyolojik olarak da *R. equi* izole edilmesi de bu görüşü destekleyici niteliktedir.

Ayrıca, bronşiol lenf düğümlerinin şişkin ve ödemli olduğu, ara sıra yumuşak kazeonekrotik odaklar içerdiği kaydedilmektedir (Mariotti, 2000; Hazıroğlu, 2001). Çalışmada da bazı olgularda (Olgu no:7, 8, 11) sözü

edilen lenf düğümlerinin 2-3 kat şişkin görünüşlü olduğu ve kesit yüzlerinin apselli olduğu dikkati çekti.

Mikroskopik incelemede akciğerlerde saptanan irinli kataral bronkopnömoni, bakterileri fagosite etmiş makrofajlar ile bunların ve diğer yangısal hücrelerin nekrozu, çok çekirdekli dev hücreleri birçok araştırmacı (Karadaş ve ark., 1996; Hazıroğlu, 2001; Szederi ve ark., 2001; Szederi ve ark., 2006) tarafından da tanımlanan klasikleşmiş bulgulardır. Çalışmada bu yangısal tabloya eşlik eden ödem ve bağ doku hücre artışı ile damarlarda gözlenen tromboz literatürle (Szederi ve ark. 2006) uyumluydu. Akciğerlerde lezyonların çok şiddetli olduğu durumlarda bile plörada yangı gözlenmediğinden bahsedilmektedir (Hazıroğlu, 2001). Çalışmada ise iki olguda (Olgu no:7, 8) plörada ödem ve bir olguda (Olgu no:7) buna eşlik eden fokal yangısal hücre infiltrasyonu gözlendi. Çalışmada (Olgu no:7, 8, 10, 11) mediastinal lenf düğümlerinde görülen yangısal hücre infiltrasyonları ve lenf folliküllerinde görülen lenfoid nekrozların varlığı önceki çalışmalar ile (Ishino ve ark., 1992; Mariotti, 2000) uyum içindeydi.

Rhodococcus equi ile enfekte genç taylarda akciğerlerde şiddetli irinli bronkopnömoniden sonra daha az sıklıkta şekillenen bağırsak formunda görülen lezyonlar; mezenterik lenf düğümlerinde granülomatöz ve irinli yangı ile birlikte ülseratif enterokolitistir (Cimprich ve Rooney, 1977; Johnson ve ark., 1983b; Özgür ve Ilgaz, 2000). Olgulardan sadece birinde (Olgu no:8) makroskopik olarak bağırsakların subserozal damarlarında dolgunluk ve lümeninde sarı-sulu renkli içerik ile mukozada hiperemi gözlendi. Mezenterik lenf düğümlerinde şişlik ya da kesit yüzlerinde bahsedilen granülomatöz odaklara ilgili bulgular dikkati çekmedi. Bu olguda bahsedilen tipik patolojik bulguların görülmemesi ve diğer olgularda da bağırsaklarla ilgili herhangi bir lezyonun şekillenmemesi bu formun akciğer formuna göre daha az sıklıkta şekillendiği düşüncesini

doğuladı. Ayrıca çalışmadaki taylorın yaşı da bağırsaklarda lezyonların oluşmaması için diğer bir etken olabileceği düşünöldü.

Etkenin akciğerden yayılması sonucu, karaciğer ve böbrek gibi parankim organlarında da lezyonlar şekillenebilir (Johnson ve ark., 1983a). Makroskopik olarak birkaç olguda (Olgu no:8, 11, 12) karaciğerin şişkin ve kenarlarının küt olduğu kesit yüzünden ise kan sızdığı fark edildi. Bir olguda (Olgu no:8) böbreklerin büyüdüğu, bir başka olguda (Olgu no:11) ise böbreklerin özellikle korteksinde toplu iğne başı büyüklüğünde diffuz dağılımlı beyaz renkte odaklar ile kalp kasında diffuz dağılımlı peteşiyel kanama alanları gözlendi. Mikroskopik olarak karaciğerde sentrilöbüler nekroz ve mononökleer hücre infiltrasyonu ile böbreklerde parankim dejenerasyonlarının gözlendiği bildirilmektedir (Ishino ve ark.,1987; Karadaş ve ark., 1997). Çalışmada da bu bulgulara benzer şekilde karaciğerde değişen şiddette dejenerasyon, nekroz, yağlanma, pasif hiperemi ve mononökleer hücre infiltrasyonları ile böbreklerde nekroz, tubul lümenleri ve Bowman boşluklarında pembe homojen renkte proteinöz materyal birikimi, mononökleer hücre infiltrasyonu ve bir olguda (Olgu no:11) hücre birikimlerinin ortalarında ve glomerulus kapillarlarında bakteri kümeleri saptandı. Kalp kasındaki damarlarda hiperemi ve kas demetleri arasında eritrosit kümeleri (Olgu no:11) ile bir olguda (Olgu no:9) karın boşluğunda, göbek kordonu kaynaklı olduğu düşünölen kitlede kronik granölasyon dokusu gözlendi.

Enfeksiyonun kesin tanısı için etken izolasyonu gereken durumlarda *R.equı*'nin dokularda morfolojik olarak tanınması olanaksızdır (Mariotti ve ark., 2000). İmmunohistokimyasal teknikler, formalinde tespit edilmiş ve parafine gömülmüş doku kesitlerinde enfeksiyon etkenlerinin saptanmasında kullanılabilecek en uygun yöntemlerdir. Aynı zamanda, bu teknikler enfeksiyonu oluşturan etkenlerin dokulardaki kesin yerleşimini göstermesi bakımından histopatolojik bulguların değerlendirilmesini de kolaylaştırır. *R.equı*'nin tespitinde immunoperoksidaz teknikleri yanında

indirekt immunofloresan tekniği (IIF) de kullanılabilir. İmmunoperoksidaz teknikler IIF'nin aksine, sonuçların ışık mikroskopunda rahatlıkla değerlendirilebilmesi ve hazırlanan preparatların uzun yıllar saklanabilmesi açısından, hücre ve doku morfoloji çalışılmasında; çok pahalı olmaması ve PCR'ın aksine özel laboratuvar koşulları ve personel gerektirmemesi bakımından daha elverişlidir (Szederi ve ark., 2006). Sayılan bu özellikleri, immunoperoksidaz teknikleri patogenezi çalışılmasında eşsiz bir konuma getirmiştir. İmmunoperoksidaz tekniği kullanılarak, *R. equi* antijenlerinin doku kesitlerindeki dağılımı başarıyla saptanmaktadır (Zink ve ark., 1985; Ishino ve ark., 1992; Madarame ve ark., 1996; Mariotti ve ark., 2000; Szederi ve ark., 2001; Uhl ve ark., 2002; Szederi ve ark., 2006). Bu çalışılmalarda, *R. equi* antijenlerinin akciğerde çoğunlukla irinli yangı bölgelerinin ortasında, daha az olarak da bronşiol lümeninde yıkılmış hücrelerle karışık purulent eksudatta yerleşikleri belirlenmiştir. Pozitif boyanmaların akciğer ve mediastinal lenf düğümü kesitlerinde en sık makrofajların sitoplazmaları içerisinde, bazen de çok çekirdekli dev hücreleri ve nötrofil lökositlerde görüldüğü ve (Ishino ve ark., 1992) az oranda alveol lümenlerinde ve intersitisyumda da yerleşikleri kaydedilmiştir (Szederi ve ark., 2006). Bağırsak formunun görüldüğü tatlarda bağırsak ve mezenteriyal lenf düğümlerinde makrofajlarda, daha az oranda çok çekirdekli dev hücreleri ve nötrofil lökosit sitoplazmalarında *R. equi*'ye karşı pozitif boyanmaların görüldüğü bildirilmektedir (Mariotti ve ark., 2000). Sunulan çalışılma, *R. equi*, akciğerde irinli yangı bölgelerinin ortasında, bazı bronşiol lümenlerinde eksudatla karışık az oranda nötrofil lökositlerde, çoğunlukla makrofajlarda hücre içi yerleşimli olduğu görüldü. Bir olguda (Olgu no:7) literatürle (Johnson ve ark., 1983a; Karadaş ve ark., 1997;) uyumlu olarak, mediastinal lenf düğümünde nekrotik lenfoid folliküllere yakın bölgede birkaç makrofajın sitoplazmasında tespit edildi. Çalışılma; özellikle çoğunda etkenin de görüldüğü alveoler makrofajların lezyonlu bölgelerde artışı, bir kısım araştırmacılar (Barton ve Embury, 1987; Ishino ve ark., 1992; Madarame ve ark., 1996; Giguere, 2000; Wada ve ark., 2000; Uhl ve ark., 2002) tarafından da ifade edildiği gibi, makrofajların, akciğer savunma sisteminden primer sorumlu hücre olmaları ile açıklanabilir.

Yangısal reaksiyonların primer etkenleri parçalaması ya da laboratuvarında etkenin üretilmesi sırasındaki uygulama hataları ve bakteriyel bulaşma sonucu izolasyon yapılamazken, immunoperoksidaz tekniği ile aynı etkenin antijenik yapılarını tespit etmek mümkündür (Hazıroğlu ve ark., 1996). İmmunoperoksidaz teknik, bakteriyolojik izolasyon bulguları ile karşılaştırıldığında, immunoperoksidaz tekniğinin yüksek duyarlılığa sahip olduğu anlaşılmaktadır. Etken izolasyonu için gönderilen olgulardan (Olgu no:8, 10, 11) *R. equi* izole edilemeyen bir olgu da (Olgu no:10) dahil olmak üzere on iki olgudan immunoperoksidaz tekniği ile pozitif sonuç alınması bu görüşü desteklemektedir.

Rhodococcus equi'nin üretildiği ortama göre pleomorfik morfolojik bir yapısı vardır. İrinde ve katı ortamda kokoid, sıvı ortamda ise genellikle çomak şeklinde gözlenir (Strausbaugh, 2002). *R. equi* kanlı agarda 37 °C'de 2-3 gün içerisinde non-hemolitik, krema benzeri, mukoid, nemli, parlayan ve pembe koloniler meydana getirir (Takai ve ark., 1991). Mikrobiyolojik analiz için gönderilen dokulardan yapılan ekimlerde saptanan etkenin morfolojik görünüşü, literatürde bildirilenlerle benzer özelliklere sahipti.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan bu çalışmayla taylarda doğal yollarla şekillenen *R.equi* enfeksiyonunun klinik, makroskobik, mikroskobik ve immunoperoksidaz bulguları incelendi. Toplam 12 tay incelendi. Taylarda gözlenen genel klinik bulgular; yüksek ateş, şiddetli öksürük ve solunum güçlüğü idi. Makroskobik olarak; olgu no:1,7,8,10,12’de akciğerde tipik kazeonekrotik odaklarla karşılaşıldı. Histopatolojik incelemede; irinli bronkopnömoni tablosu dikkati çekti. *R. equi*’nin, yapılan immunoperoksidaz boyamalarla, akciğer ve mediastinal lenf düğümü kesitlerinde, çoğunlukla makrofajların, bazen de nötrofil lökositlerin sitoplazmasında yerleştiği görüldü. Böylece hücre içi bir bakteri olduğu bu teknikle bir kez daha doğrulandı. (Olguların hepsi de *R. equi* immunopozitif). Bağırsaklarda lezyon görülmemesi, bağırsak formunun akciğer formuna göre ender olarak şekillendiğini doğruladı. 12 taydan üçünde (Olgu no: 8,10,11) mikrobiyolojik inceleme yapılabildi ve bunlardan sadece iki olguda (Olgu no: 8,11) mikrobiyolojik olarak *R. equi* izole edilebildi. Sonuç olarak; immunoperoksidaz tekniğinin, tayların *R. equi* enfeksiyonunun tanısı için duyarlı bir yöntem olduğu belirlendi. Ayrıca görülen pnömonilerin büyük oranda *R. equi*’den kaynaklandığı görüldü.

Hastalıkta mikrobiyolojik izolasyon yanında, immunoperoksidaz tekniğinin kullanılması enfeksiyonun kesin tanısında yararlıdır. Hastalığın çıkışında mevsim faktörü göz önüne alındığında, tay doğumlarının Ocak ayında olacak şekilde ayarlanması önemlidir. Ayrıca hayvanların barındırıldıkları tavla altlıklarının tozlanmaya ve dışkı birikiminin engellenmesine yönelik olması gereklidir. Diğer taraftan hayvanların, her gün rektal ısıları ölçülerek; ateşi yüksek çıkan ve kan testlerinde lökosit sayısında artış olanlara karşı gerekli koruma yöntemlerinin geliştirilmesinin gerekliliği bu çalışmayla bir kez daha ortaya konmuştur.

ÖZET

Taylarda *Rhodococcus equi* Enfeksiyonunun Patolojik Bulguları ve İmmunoperoksidaz Tekniği ile Tanısı

Klinik olarak solunum güçlüğü bulguları gösteren ve 2003-2006 yıllarının ilkbahar-yaz aylarında ölen 12 tayın nekropsisi yapıldı. Oniki tayda da *R.equi*'ye bağlı pnömoni saptandı (Olguların hepsi *R.equi* immunopozitif). Makroskobik olarak; bazı olgularda (5 olguda) akciğerde tipik kazeonekrotik odaklarla karşılaşıldı. Histopatolojik incelemede; irinli bronkopnömoni tablosu dikkati çekti. *R. equi*' nin, yapılan immunoperoksidaz boyamalarla, akciğer ve mediastinal lenf düğümü kesitlerinde, çoğunlukla makrofajların, bazen de nötrofil lökositlerin sitoplazmasında yerleştiği görüldü. Bağırsaklarda lezyon görülmemesi, bu formun akciğer formuna göre ender şekillendiğini gösterdi. Sadece iki olguda mikrobiyolojik olarak *R. equi* izole edilebildi. Sonuç olarak; çalışmada kullanılan 12 tayda da *R. equi*'nin saptanmış olması, taylarda görülen pnömonilerin çoğunluğundan bu bakterinin sorumlu olduğunu ve ayrıca tanısında immunoperoksidaz tekniğinin başarıyla kullanılabileceğini gösterdi.

Anahtar Sözcükler: İmmunoperoksidaz tekniği, patoloji, *Rhodococcus equi*, tay.

SUMMARY

The Pathological Findings of *Rhodococcus equi* and Its Diagnosis With Immunoperoxidase Technique in Foals

Twelve foals died at spring-summer months between 2003-2006 years which had difficulty in respiration in their clinical findings, were necropsied. Pneumonia due to *R. equi* are determined in all twelve foals. (All cases were immunopositive for *R. equi*). Macroscopically; at some cases (At 5 cases) typical caseo-necrotic nodules were seen at the lungs. In histopathological examination; purulent bronchopneumonia was noticed. The localization of *R. equi* antigens were determined usually in cytoplasm of macrophages, occasionally in neutrophil immunoperoxidase technique at the lung and mediastinal lymph node. Not finding any lesions at intestine, also confirmed that this form of the infection is encountered rarely compared to the lung form. Only at two cases, *R. equi* was isolated microbiologically. As a result, as *R. equi* was diagnosed in all the samples obtained, it was understood that *R. equi* is responsible in most of the foals' pneumonias and its diagnosis with immunoperoxidase technique can successfully be used in the field.

Key Words: Foal, immunoperoxidase technique, pathology, *Rhodococcus equi*.

KAYNAKLAR

- AFIP KONFERANSLARI.
Erişim: www.afip.org/vetpath/WSC/wsc02/02wsco1.pdf. (a) Erişim Tarihi: 10.03.2003 Erişim: www.afip.org/vetpath/WSC/wsc01/01wsco17.pdf. (b) Erişim Tarihi: 21.04.2003
- AUCOIN, S., EADES, C.S. Rhodococcus equi pneumonia in foals. Erişim: [\[http://eurp.lsu.edu/healthtips/Rhodococcus-equi-Pneumonia.htm\]](http://eurp.lsu.edu/healthtips/Rhodococcus-equi-Pneumonia.htm). Erişim Tarihi: 18.12.2002
- ANZAI, T., WADA, R., NAKANİSHİ, A., KAMADA, M., TAKAI, S., SHİNDO, Y., TSUBAKİ, S. (1997). Comparison of tracheal aspiration with other tests for diagnosis of Rhodococcus equi pneumonia in foals. *Vet. Microbiol.*, **56**: 335-45.
- BARTON, M.D., EMBURY, D.H. (1987). Studies pathogenesis of R.equi infection in foals. *Aust. Vet. J.*, **64**: 332-339.
- BECU, T., POLLEDO, G., GASKIN, J.M. (1997). Immunoprophylaxis of Rhodococcus equi pneumonia in foals. *Vet. Microbiol.*, **56**: 193-204.
- BOHN, A.A., ROTHSCHILD, C. (2002). Peritoneal fluid from a febrile foal. *Vet. Clin. Pathol.*, **31**:189-191.
- BRADLEY, M. Rhodococcus equi pneumonia of foals. Erişim: [\[http://www.gov.on.ca/mbs/english/index.html\]](http://www.gov.on.ca/mbs/english/index.html). Erişim Tarihi: 20.02.2003
- CANTOR, G.H., BYRNE, B.A., HINES, S.A., RICHARDS II, H.M. (1998). VapA-negative Rhodococcus equi in a dog with necrotizing pyogranulomatous hepatitis, osteomyelitis and myositis. *J. Vet. Diagn. Investig.*, **10**: 297-300.
- CHAFFIN, M.K., HONNAS, C.M., CRABİLL, M.R., SCHNEITER, H.L., BRUMBAUGH, G.W., BEİNER, R.P. (1995). Cauda equina syndrome, diskonpondylitis and a paravertebral abscess caused by R.equi in a foal. *J.A.V.M.A.*, **206**: 215-220.
- CIMPRICH, R.E., ROONEY, J.R. (1977). Corynebacterium equi enteritis in foals. *Vet. Pathol.*, **14**: 95-102.
- COHEN, N.D., O'CONOR, M.S., CHAFFIN, M.K., MARTENS, R.J. (2005). Farm characteristics and management practices associated with development of Rhodococcus equi pneumonia in foals. *JAVMA.*, **226**: 404-413.
- CUTERI, V., TAKAI, S., MOSCATI, L., BATTISTACCI, L., PICRAMATİ, C., VALENTE, C. (2003). A serological survey of Rhodococcus equi infection in foals in central Italy: comparison of two antigens using an ELISA test. *Comp. Microbiol. Infec. Dis.*, **26**: 17-23.
- ÇETİN, C., KAHRAMAN, M. (1997). Bir tayda R.equi infeksiyonu. *Etlık Vet. Mikrob. Derg.*, **9**: 127-130.

- DEMINE, J. *Rhodococcus equi*. Erişim: [<http://Jinnita.com/contents.htm>]. Erişim Tarihi: 13.01.2003
- FIRTH, E.C., Alley, M.R., Hodge, H. (1993). *Rhodococcus equi*-associated osteomyelitis in foals. *Aust. Vet. J.*, **70**: 304-307.
- FLYNN, O., QUIGLEY, F., COSTELLO, E., O'GRADY, O., GOGARTY, A., GUIRK, J.M., TAKAI, S. (2001). Virulence-associated protein characterisation of *Rhodococcus equi* isolated from bovine lymph nodes. *Vet. Microbiol.*, **78**: 221-228.
- GIGUERE, S. (2000). *Rhodococcus equi* infections. Erişim: [<http://www.ivis.org>]. Erişim Tarihi: 13.01.2003
- GIGUIRE, S., PRESCOTT, J. F. *Rhodococcus equi* pneumonia: A deadly cough. Erişim: [<http://www.netpets.com/horses/healthspa/rhodo.html>]. Erişim Tarihi: 18.12.2002
- GOOGFELLOW M., ALDERSON G. (1977). The actinomycete-genus *Rhodococcus*: a home for the rhodochrous complex. *J. Gen Microbiol.*, **100**: 99-102.
- GOTOH, K., MITSUYAMA, M., IMAIZUMI, S., KAWAMURA, I., YANO, I. (1991). Mycolic acid-containing glycolipid as a possible virulence factor of *Rhodococcus equi* for mice. *Microbio. Immunol.*, **35**: 175-185.
- HARPEN, F. Foal Disease Part III. Erişim: [<http://www.neosoft.com/iaep/pages/bulleteins/foaldisease.html>]. Erişim Tarihi: 21.04.2003
- HARRINGTON, J.R., GOLDING, M.C., MARTENS, R.J., HALBERT, N.D., COHEN, N.D. (2005). Evaluation of real-time quantitative polymerase chain reactions assay for detection and quantitation of virulent *Rhodococcus equi*. *A.V.J.R.*, **66**: 755-761.
- HASHIKURA. S., HIGUCHI. T., TAHARAGUCHI. S., ORITA. Y., NANA. Y., TAKAI. S. (2000). Evaluation of nasotracheal aspiration as a diagnostic tool for *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. *Equine Vet. J.*, **32**: 560-564.
- HAWINS, M. (1998). The Johns Hopkins Microbiology Newsletter. Erişim: [<http://pathology5.pathology.ihmi.edu/micro/v17n18.htm>]. Erişim Tarihi: 18.12.2002
- HAZIROĞLU, R. (2001). Solunum sistemi. In: *Veteriner Patoloji*, Ed.: R. Haziroğlu, Ü.H. Milli, "2. Baskı", Medipres Yayıncılık, Malatya s.: 97-98.
- HAZIROĞLU, R., DİKER K.S., TÜRKAASLAN, J. GÜLBAHAR. M.Y. (1996). Detection of *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Pasteurella haemolytica* antigens by an immunoperoxidase technique in pneumonic ovine lungs. *Vet. Pathol.*, **33**: 74-76.
- HIETALA, S.K., ARDANS, A.A. (1987). Interaction of *Rhodococcus equi* with phagocytic cells from *R. equi*-exposed and non-exposed foals. *Vet. Microbiol.*, **14**: 307-320.

- HILLIDGE, C.J. (1986). Review of *Corynebacterium (Rhodococcus) equi* lung abscesses in foals: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Vet. Rec.*, **119**: 261-264.
- ISHINO, S., KUMAGAI, K., KUNİYOSHI, S., NAKAZAWA, M., MATSUDA, I., OKA, M. (1992). Immunohistochemical observations on pneumonic lesions caused by *Rhodococcus equi* in foals. *J. Vet. Med. Sci.*, **54**: 509-515.
- JANICEK, J.C., KRAMER, J., COATES, J.R., LATTIMER, J.C., LACARRUBBA, A.M., MESSER, N.T. (2006). Intracranial abscess caused by *Rhodococcus equi* infection in a foal. *J.A.V.M.A.*, **228**: 251-253.
- JOHNSON, J.A., PRESCOTT, J.F., MARKHAM, R.J.F. (1983a). The pathology of experimental *Corynebacterium equi* infection in foals following intrabronchial challenge. *Vet. Pathol.*, **20**: 440-449.
- JOHNSON, J.A., PRESCOTT, J.F., MARKHAM, R.J.F. (1983b). The pathology of experimental *Corynebacterium equi* infection in foals following intragastric challenge. *Vet. Pathol.*, **20**: 450-459.
- KAHRAMAN M. (1997). Gram pozitif sporsuz bakteriler. *Rhodococcus*'lar ve *Rhodococcus* İnfeksiyonları. In: Veteriner Özel Mikrobiyoloji, Ed.: M. Arda, "4. Baskı", Medisan Yayın Serisi, Ankara. s.:175-178.
- KARADAŞ, E., GÜLCÜ, H.B., BEYTUT, E., KAHRAMAN, E.M. (1997). İki Arap tayında *R.equi (Corynebacterium equi)* enfeksiyonu. *F.Ü. Sağlık Bil. Derg.*, **11**: 321-325.
- KEDLAYA, I. (2005). *Rhodococcus equi*. Erişim: [<http://emedicine.com/med/topic3378.htm>]. Erişim Tarihi: 01.12.2005
- KULICH S.M., PASCULLE W.A. (2002). Final diagnosis- pneumonia, hilar lymphadenitis and sepsis secondary to *R.equi*. Erişim: [<http://path.upmc.edu/cases/case146/dx.htm>]. Erişim Tarihi: 18.12.2002
- LINDER, R. (1997). *Rhodococcus equi* and *Arcanobacterium haemolyticum*: Two "Coryneform" bacteria increasingly recognized as agents of human infection. Erişim: [<http://path.upmc.edu>]. Erişim Tarihi: 18.12.2002
- MADARAME, H., TAKAI, S., MATSUMOTO, C., MINAMIYAMA, K., SASAKI, Y., TSUBAKI, S., HASEGAWA, Y., NAKANE, A.. (1997). Virulent and avirulent *Rhodococcus equi* infection in T- cell deficient athymic nude mice: pathologic, bacteriologic and immunologic responses. *FEMS., Immunol&Med. Microbiol.*, **17**: 251-262.
- MADARAME, H., TAKAI, S., MORISAWA, N., FUJII, M., HIDAKA, D., TSUBAKI, S., HASEGAWA, Y. (1996). Immunohistochemical detection of virulence-associated antigens of *Rhodococcus equi* in pulmonary lesions of foals. *Vet. Pathol.*, **33**: 341-343.
- MADIGAN, J.E., HIETALA, S., MULLER, N. (1991). Protection against naturally acquired *Rhodococcus equi* pneumonia in foals by administration of hyperimmune plasma. *J. Reprod. Fertil.*, **44**: 571-578.
- MAGNUSSON, H. (1923). Spezifische infektiöse pneumonie beim fahlen, ein neuer eiterreger beim pferd. *Arch. Wiss. Prakt. Tierhelk.*, **50**: 22-38.

- MAKRAI, L., TAKAYAMA, S., DENES, B., HAJTOS, I., KAKUDA, Y., TSUBAKI, S., MAJOR, A., FODOR, L., JANOS, V. (2005). Characterization of virulence plasmids and serotyping of *R. equi* isolates from submaxillary lymph nodes of pigs in Hungary. *J. Clin. Microbiol.*, **43**: 1246-1250.
- MANGAN, M.W., MEIJER, W.G. (2001). Random insertion mutagenesis of the intracellular pathogen *R. equi* using transposomes. *FEMS. Microbiol.*, **205**: 243-246.
- MARIOTTI, F., CUTERI, V., TAKAI, S., RENZONI, G., PASCUCCHI, L., VITELLOZI, G. (2000). Immunohistochemical detection of virulence-associated *R. equi* antigens in pulmonary and intestinal lesions in horses. *J. Comp. Path.*, **123**: 186-189.
- NAY, T.S. (1996). Extra-pulmonary *R. equi* in a thoroughbred foal. *Can. Vet. J.*, **37**: 623-624.
- ÖZGÜR, N.Y., ILGAZ, A. (2000). Tayların *R. equi* pnömonisi. *İnfeksiyon Derg.*, **15**: 405-408.
- ÖZGÜR, Y., İKİZ, S., CARIÖĞLU, B., ILGAZ, A., TAKAI, S. (2000). Two cases of dead foals associated with *R. equi* pneumonia in Turkey. *J. Equine Sci.*, **11**: 1-5
- ÖZGÜR, N.Y., İKİZ, S., BAĞCIGİL, A.F., CARIÖĞLU, B., AKAY, Ö., ILGAZ, A., TAKAI, S. (2002a). Marmara Bölgesi'nde yarış atı yetiştirilen haralardaki taylarda *R. equi* enfeksiyonunun ELISA ile erken tanısı üzerine çalışmalar. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **26**: 1427-1434.
- ÖZGÜR, N.Y., İKİZ, S., BAĞCIGİL, F., CARIÖĞLU, B., ILGAZ, A., TAKAI, S. (2002b). *Rhodococcus equi* pneumonia in a mare in Turkey. *Vet. Rec.*, **151**: 613
- PATE, M., PIR, T., ZDOVC, I., KRT, B., OCEPEK, M. (2004). Haemolytic *Rhodococcus equi* isolated from swine lymph node with granulomatous lesions. *J.A.V.M.A.*, **51**: 249-250.
- PISCOPO, S. (2004). *R. equi* on breeding farms. Erişim: [<http://www.thehorse.com>]. Erişim Tarihi: 03.12.2004
- PRICE, C.S., RUSH, B.R., GAUGHAN, E.M., COX, J.H. (2003). Osteomyelitis of the pelvis caused by *Rhodococcus equi* in a two-year-old horse. *J.A.V.M.A.*, **222**: 969-972.
- RİEDEL, E.A. (1996). What's Your Radiographic Diagnosis? College of Veterinary Medicine. *Iowa State Univ. Vet.*, **58**: 31-32.
- SELLON, D.C., WALKER, K., SUYEMOTO, M., ALTIER, C. (1997). Nucleic acid amplification for rapid detection of *R. equi* in equine blood and tracheal wash fluids. *A.J.V.R.*, **58**: 1232-1237.
- STRAUSBAUGH, L.J. (2002). *Rhodococcus equi*: An emerging pathogen. Erişim: [<http://www.infeksiyon-org.htm>]. Erişim Tarihi: 22.02.2003
- SZEDERI, L., MAKRAI, L., DENES, B. (2001). Rapid immunohistochemical detection of *Rhodococcus equi* in impression smears from affected foals on postmortem examination. *J. Vet. Med. B*, **48**: 751-758.

- SZEDERI, L., MOLNAR, T., GLAVITS, R., TAKAI, S., MAKRAI, L., DENES, B., DEL PIERO, F. (2006). Two cases of equine abortion caused by *Rhodococcus equi*. *Vet. Pathol.*, **43**: 208-211.
- TAKAI, S. (1997). Epidemiology of *Rhodococcus equi* infections: a review. *Vet. Microbiol.*, **56**: 167-176.
- TAKAI, S., HIGUCHI, T., MATSUKURA, S., TAMADA, Y., NISHIO, Y., MORISHITA, T., FUJII, M. (2000). Some epidemiological aspects of *Rhodococcus equi* infection in foals in Japan: A review of 108 cases in 1992-1998. *J. Equine Sci.*, **11**: 7-14.
- TAKAI, S., KOIKE, K., OHBUSHI, S., IZUMI, C., TSUBAKI, S. (1991). Identification of 15- to 17- kilodalton antigens associated with virulent *Rhodococcus equi*. *J. Clin. Microbiol.*, **29**: 439-443.
- TAKAI, S., MARTENS, R.J., JULIAN, A., RIBEIRO, M.G., FARIAS, M.R., SASAKI, Y., INUZUKA, K., TSUBAKI, S., PRESCOTT, J.F. (2003). Virulence of *Rhodococcus equi* isolated from cats and dogs. *J. Clin. Microbiol.*, **41**: 4468-4470.
- TAKAI, S., SASAKI, Y., TSUBAKI, S. (1995). *Rhodococcus equi* infections in foals-current concepts and implication for future research. *J. Equine Sci.*, **6**: 105-119.
- THOMAS, H.S. (2000). Foal pneumonia caused by *Rhodococcus equi*. Erişim: [<http://www.Jully.htm>]. Erişim Tarihi: 13.01.2003
- UHL, E.W., GIGUERE, S., JACK, T.J., HODGE, T. (2002). Increased pulmonary activation of nuclear factor- κ B (NF- κ B) in foals inoculated with *Rhodococcus equi* is associated with increased expression of inflammatory cytokines. *Vet. Pathol.*, **39**: 132-136.
- WADA, R., KAMADA, M., ANZAI, T., NAKANISHI, A., KANEMARU, T., TAKAI, S., TSUBAKI, S. (1997). Pathogenecity and virulence of *Rhodococcus equi* in foals following intratracheal challenge. *Vet. Microbiol.*, **56**: 301-312.
- WION, L., PERKINS, G., AINSWORTH, D.M., DYKES, N.L., DIVERS, T.J. (2001). Use of computerised tomography to diagnose a *Rhodococcus equi* mediastinal abscess causing severe respiratory distress in a foal. *Equine Vet. J.*, **33**: 523-526.
- WRIGHT, B. (2006). *Rhodococcus equi* pneumonia of foals. Erişim: [<http://www.omafr.gov.on.ca/english/livestock/horses/facts/90-056.htm>]. Erişim Tarihi: 02.05.2006
- YAGER, J.A., PRESCOTT, C.A., HANNAH, H., BALSON, G.A., CROY, B.A. (1991). The effect of experimental infection with *Rhodococcus equi* on immunodeficient mice. *Vet. Microbiol.*, **28**: 363-376.
- ZINK, M.C., YAGER, J.A., PRESCOTT, J.F., WILKIE, B.N. (1985). In vitro phagocytosis and killing of *Corynebacterium equi* by alveolar macrophages of foals. *Am. J. Vet. Res.*, **46**: 2171-2174.

ZINK, M.C., YAGER, J.A., SMART, N.L. (1986). *Corynebacterium equi* infections in horses, 1958-1984: A review of 131 cases. *Can. Vet. J.*, **27**: 213-217.

ÖZGEÇMİŞ

ADI	Şule Yurdağül
SOYADI	ÖZSOY
DOĞUM YERİ VE TARİHİ	Kırşehir, 1978
UYRUĞU	T.C.
MEDENİ DURUMU	Evli
ADRESİ	Ziraat Mah. Tekdal Sok.2/7 Dışkapı, ANKARA
TEL (EV)	0 312 3177145
TEL (CEP)	0505 2322828
E-MAİL	suleozsoy@gmail.com

I. Eğitim-Öğretim

Lisans	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doktora	Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2002, Ankara
Doktora Tezi Konusu	“Taylarda <i>Rhodococcus equi</i> Enfeksiyonunun Patolojik Bulguları ve İmmunoperoksidaz Tekniği ile Tanısı”
Doktora Tezi Danışmanı	Prof.Dr.Rıfki HAZIROĞLU

II.Akademik Yükselmeler

Araş. Gör.	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2001, Hatay
Araş. Gör.	Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2002, Ankara
Yabancı Dil	İngilizce
Yabancı Dil Sınavı	ÜDS-68.75

III.Üyesi Bulduğum Uluslar arası ve Ulusal Mesleki Kuruluş ve Dernekler Veteriner Patoloji Derneği, 2003, Ankara

IV. Yayınlar

1. **ÖZSOY, Ş.Y.**, HAZIROĞLU, R. (2003). Tayların *Rhodococcus equi* enfeksiyonu. Bornova Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg., **28 (42)**: 17-22.
2. ATALAY VURAL, S., HAZIROĞLU, R., ÖZYILDIZ, Z., **ÖZSOY, Ş.Y.**, ŞİRİN, S.Ş. (2005). Anal sac carcinoma in a dog. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., **52**: 201-203.
3. HAZIROĞLU, R., OZGENCİL, E., GUVENC, T., OGE, S., TUNCA, R., TONG, S., **ÖZSOY, Ş.** (2005). Peritoneal tetrathyridiosis in a Saime cat. Vet. Arhiv., **75 (5)**: 453-458.
4. TERİM KAPAKİN, A.K., **ÖZSOY, Ş.Y.**, HAZIROĞLU, R. (2006). Köpeklerde folliküler tiroid adenokarsinomu. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., **53**: 69-72.
5. GULİYEVA, Ü., ÖNER, F., **ÖZSOY, Ş.Y.**, HAZIROĞLU, R. (2006). Chitosan microparticles containing plasmid DNA as potential oral gene delivery system. EJPB., **62**: 17-25.
6. TUNCA, R., HAZIROĞLU, R., GUVENC, T., KUTSAL, O., **ÖZSOY, Ş.Y.** (2006). Congenital cerebellar hypoplasia

associated in a naturally infected calf. Vet. Arhiv., **76 (5)**: 453-460.

7. CANPOLAT, F.E., YURDAKÖK, M., **ÖZSOY, Ş.**, HAZIROĞLU, R., KORKMAZ, A. (2006). Protective effects of recombinant human granulocyte colony stimulating factor in a rat model of necrotizing enterocolitis. *Pediatr. Surg. Int.*, **22**: 719-723.
8. **ÖZSOY, Ş.Y.**, KUTSAL, O. (2007). Bir köpekte malign seminom. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **54**: 65-66.
9. ATALAY VURAL, S., ÖZYILDIZ, Z., **ÖZSOY, Ş.Y.** (2007). Pleural mesothelioma in a nine month- old dog. *Irish Vet Journal*, **60**: 722-725.
10. ATALAY VURAL, S., KELEŞ, H., **ÖZSOY, Ş.Y.**, ÖZKUL, İ.A. (2007). Köpek ve kedilerde 1977-2005 yılları arasında saptanan orofaringeal bölge tümörleri: retrospektif çalışma. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **54**:197-203.

V.Ulusal ve uluslararası bildiriler

1. TERİM KAPAKİN, A.K., **ÖZSOY, Ş.Y.**, HAZIROĞLU, R. Köpeklerde folliküler tiroid adenokarsinomu. **Sözlü sunum**, II. Veteriner Patoloji Kongresi, 6-10 Eylül 2004. Kapadokya.
2. ATALAY VURAL, S., ÖZYILDIZ, Z., **ÖZSOY, Ş.Y.** Bir köpek yavrusunda plöral mesotelyoma. **Sözlü sunum**, II. Veteriner Patoloji Kongresi, 6-10 Eylül 2004. Kapadokya.
3. ATALAY VURAL, S., HAZIROĞLU, R., ÖZYILDIZ, Z., **ÖZSOY, Ş.Y.**, ŞİRİN, S.Ş. bir köpekte anal kese adenokarsinomu. **Poster sunumu**, II. Veteriner Patoloji Kongresi, 6-10 Eylül 2004. Kapadokya.
4. **ÖZSOY, Ş.Y.**, KUTSAL, O. Bir köpekte malign seminom. **Poster sunumu**, III. Veteriner Patoloji Kongresi, 6-9 Eylül 2006. Elazığ.
5. Vural, S.A., Ozyıldız, Z., **Ozsoy, S.Y.** (2007). Pleural mesothelioma in a nine-month-old Dog. **Poster sunumu**. 40th Voorjaarsdagen European Veterinary Conference, 26-30 Nisan 2007. Hollanda-Amsterdam.
6. Besalti O, Sirin YS, Vural Atalay S, Ozak, A, Pekcan Z, **Ozsoy S**, Erbas G. (2007). MRI findings of Intracranial Tumors in Dogs: 27 cases. **Poster sunumu**. 40th Voorjaarsdagen European Veterinary Conference, 26-30 Nisan 2007. Hollanda-Amsterdam.

VI.Projeler

1. "Taylarda *Rhodococcus equi* enfeksiyonunun patolojik bulguları ve immunoperoksidaz tekniği ile tanısı" TÜBİTAK (VHAG) 2013 Nolu projede Yardımcı Araştırmacı (Kesin raporu kabul edildi).
2. "Tavşanlarda kapsüler tansiyon ring (KTR) ve/veya intraoküler lens (IOL)'in posterior kapsüler opasifikasyona olan etkisinin oftalmoskopik ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi". Ankara Üniversitesi BAP 20060810080 Nolu projede Yardımcı Araştırmacı (Devam ediyor).
3. "Ghrelin ve ghrelin reseptör antagonistinin

pankreatektomize ratlardaki pankreatik regenerasyona etkisi". TÜBİTAK (SBAG) 106S231SBAG-HD-154 Nolu projede Yardımcı Araştırmacı (Devam ediyor).

4. "Taylarda *Rhodococcus equi* enfeksiyonunun patolojik bulguları ve immunoperoksidaz tekniği ile tanısı" Bilim İnsanı Yetiştirme Projesi 2005K120140 nolu projede Yardımcı Araştırmacı (Devam ediyor).