T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALERJİK DERİ TESTİ (PPD TÜBERKÜLİN) POZİTİF İNEKLERDE TÜBERKÜLOZ LEZYONLARININ PATOLOJİSİ VE SÜT ÖRNEKLERİNDE TÜBERKÜLOZ ETKENLERİNİN PCR İLE BELİRLENMESİ

Çiğdem TUNCAY

DOKTORA TEZİ

PATOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Fatih HATİPOĞLU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 09202024 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2014

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Çiğdem TUNCAY tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Patoloji (VET) Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Hüdaverdi ERER Selçuk Üniversitesi
Danışman:	Prof. Dr. Fatih HATİPOĞLU Selçuk Üniversitesi
Üye:	Prof. Dr. M. Kemal ÇİFTÇİ Selçuk Üniversitesi
Üye:	Prof. Dr. Erkan KARADAŞ Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye:	Prof. Dr. Osman ERGANİŞ Selçuk Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tevfik TEKELİ
Enstitü Müdürü

ii. **ÖNSÖZ**

Tüberküloz insan ve hayvanlarda mikobakterium grubu mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, tüberküloz etkenleri ve konağın yangı hücrelerinin ilişkisine bağlı olarak solunum sistemi organları ve diğer organlarda kazeöz ve kazeökalseröz karakterde tüberküllerin oluşması ile karakterize, hayvanlarda büyük ekonomik kayıplara sebep olan ve dolayısıyla halk sağlığını da ciddi olarak tehdit eden kronik, bulaşıcı ve zoonotik bakteriyel bir hastalıktır.

Tüberküloz, hem insanlar hem de hayvanlar için yüzyıllar boyunca büyük bir problem olmuştur. *Mycobacterium tuberculosis,* insanlarda tüberkülozun en sık nedeni olup, yetişkinler arasındaki ölümlerin başta gelen sebebidir. Tüberkülin test pozitifliği esas alınarak yapılan değerlendirmede dünya nüfusunun üçte birini oluşturan yaklaşık 1,7 milyar kişinin tüberküloz basili ile infekte olduğu saptanmış ve 2008 yılı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre; 2015 yılına kadar hasta sayısının 50 milyona ulaşacağı, bunların 3 milyonunun Human Immunodeficiency Virus (HIV) enfeksiyonu ile birlikte olacağı ve 30 milyon insanın da bu nedenle ölmesi beklenmektedir. Bunun yanı sıra; tüberküloz olgularının %1,5-5'nin *M.bovis'*ten kaynaklandığı bildirilmektedir. Etkenin zoonoz karakterde olması sığır tüberkülozu ile insan tüberkülozu arasında mutlak bir ilişki olduğunu göstermektedir. Gelişmekte olan birçok ülkede *M.bovis* kaynaklı insan tüberkülozu oranı, tüberkülozun bütün formlarının üçte birinden sorumlu olduğu gösterilmektedir. İnsanlara mikobakteriumların geçişi, pastorize edilmemiş enfekte çiğ süt ve ürünlerinin tüketilmesi ile enfekte hayvanlarla doğrudan temas veya hasta çiftlik hayvanlarının çıkarttığı enfeksiyöz aerosollerin inhalasyonu ile bulaşmaktadır.

Dünya Hayvan Sağlık Örgütü'ne (OIE) göre ülkemizde 2008 yılında 2458 sığırda tüberküloz enfeksiyonu belirlenmiştir. Günümüzde hayvanların sıkışık ahırlarda barındırılması, hijyenik koşulların yetersiz olması, uygun olmayan bakım besleme koşulları hala mevcuttur ve bu çözümlenemeyen sorunlar hastalığın yayılmasını kolaylaştırmaktadır.

Hastalığın sığırlarda gün geçtikçe yayılarak önemli ekonomik kayıplara yol açması, zoonoz karakterde olması ve dolayısıyla insan sağlığını tehdit etmesi nedeni ile bu konuda sığır tüberkülozunun hem yayılmasının hem de insanlara geçişinin

önlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla, hastalığın teşhis edilmesi ve kontrol altına alınması önem arzetmektedir.

Doktora tez çalışmam sırasında ilgi ve yardımlarını gördüğüm danışman hocam Prof. Dr. Fatih HATİPOĞLU'na, SÜ Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri; Prof. Dr. Hüdaverdi ERER'e, Prof. Dr. M. Kemal ÇİFTÇİ'ye, Prof. Dr. Mustafa ORTATATLI'ya, Doç. Dr. Özgür ÖZDEMİR'e, Araş. Gör. Funda TERZİ'ye ve kesitlerin alınması ve boyanmasında katkılarından dolayı biyolog Kadir ÖZ'e, süt örneklerinde PCR çalışmalarında yardımlarından dolayı SÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yard. Doç. Dr. Zafer SAYIN'a, saha çalışması sırasında yardımlarını esirgemeyen Amasya ili Suluova Pan-Et Mezbahası Veteriner Hekimi Ogün ÜSTÜN'e, çalışmam sırasında manevi desteklerinden dolayı mesai arkadaşlarıma, ilgi ve desteklerini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan anne, baba ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Sunulan tez projesi, Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: 09202024).

iii. İÇİNDEKİLER

		Sayfa No
i.	**ONAY SAYFASI**	i
ii.	**ÖNSÖZ**	ii
iii.	**İÇİNDEKİLER**	iv
iv.	**SİMGELER VE KISALTMALAR**	vi
1. GİRİŞ		**1**
1.1. Tanım		1
1.2. Tarihçe		2
1.3. Etiyoloji		6
1.4. Epidemiyoloji		9
1.5. Klinik Bulgular		14
1.6. Patogenezis		15
1.7. İmmünopatoloji		18
1.7.1. Doğal İmmunite		19
Makrofaj-basil bağlanması ve fagolizozom oluşumu		19
Apoptozis		21
Genetik Faktörler		22
1.7.2. Kazanılmış İmmunite		22
Hücresel İmmünite		23
Geç Tip Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu		23
Sitokinler		24
Humoral İmmünite		26
1.8. Laboratuar Teşhis		26
1.8.1. Bakteriyoskopi		27
1.8.2. Histopatolojik Muayene		28
1.8.3. Kültür		28
1.8.4. Moleküler Yöntemler		29
1.8.5. Hayvan Deneyi		30
1.8.6. Hücresel Bağışıklığın Ölçülmesi		30
PPD Tüberkülin Deri Testi		30
Lenfosit Proliferasyon Testi		32
Gama İnterferon (IFN-γ) Testi		32
1.8.7. Humoral Bağışıklığın Ölçülmesi		33
1.9. Korunma ve Kontrol		34
2. GEREÇ VE YÖNTEM		**36**
2.1. Gereç		36
2.2. Yöntem		36
2.2.1. Histopatolojik İncelemeler		36
2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)		38

3. BULGULAR **40**
3.1. Makroskobik ve Mikroskobik Bulgular 44
3.1.1.Akciğer 44
3.1.2. Karaciğer 45
3.1.3. Meme 46
3.1.4. Diğer Organlar 48
3.2. Süt Örneklerinde PCR 49
4. TARTIŞMA **76**
5. SONUÇ VE ÖNERİLER **86**
6. ÖZET **88**
7. SUMMARY **89**
8. KAYNAKLAR **90**
9. EKLER **103**
10. ÖZGEÇMİŞ **104**

iv. SİMGELER VE KISALTMALAR

AIDS; Acquired Immune Deficiency Syndrome

ARB; Asido Resistant Bacil

Bax-1; Pro apopitotik molekül

Bcl-2; Anti apopitotik molekül

BCG; Bacillus Calmette Guarin

CD4+TH; CD4 pozitif T lenfosit

CD8+TH; CD8 sitotoksik T lenfosit

CFP-10; Culture filtrate protein 10k-Da

CFT; Komplement fikzasyon test

CO_2; Karbondioksit

CR; Kompleman reseptörleri

DNA; Deoksiribonükleik asit

EDTA; Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

EZN; Ehrlich-Ziehl-Neelsen

ELISA; Enzyme-Linked Immunoassay analysis

ESAT-6; Early secreted antigenic target 6-kDa

HCl; Hidroklorik Asit

HE; Hematoksilen Eozin

HIV; Human Immunodeficiency Virus

H_2O_2; Hidrojen Peroksit

IL; İnterleukin

IFN-γ; Gamma İnterferon

LAM; Lipoarabinomannan

LJ; Löwenstein- Jensen

MÖ; Milattan Önce

MBL; Mannoz Bağlayıcı Lektin

MCP; Monocyte chemoat tractant protein

MHC; Major Histocompatability Complex

MR; Mannoz Reseptörleri

MTC; Mycobacterium Tuberculosis Complex

NaCl; Sodyum Klorür

NaOH; Sodyum Hidroksit

NK; Natural Killer (Doğal Katil)

NO; Nitrojen

NRAMP; Natural Resistance Associated Macrophage Protein Gene

OD; Optik Densite

OIE; Dünya Hayvan Sağlık Örgütü

PPD; Pürifiye Protein Derivatı

PZA; Pyrazinamide

PZR; Protein Zincir Reaksiyonu

RANTES; Regulated on Activation Normal Tcell Expressed and Secreted

RFLP; Restriction Fragment Length Polymorphism

RNI; Nitrojen Ara Ürünü

SDS; Sodium Dodecyl Sulphate

Tb; Tüberküloz

TGF-β; Transforming Growth Factor-Beta

TLR; Tool Like Reseptör

TNF; Tumor Necrosis Factor

T_2H; Thiophene-2 carboxylie asid hydrazide

μm; Mikrometre

WHO; Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

1.1. Tanım

Tüberküloz (Tb), gerek insan gerekse hayvan sağlığını olumsuz yönde etkileyen, akciğer başta olmak üzere, diğer organ ve dokularda kazeöz ve kazeökalseröz karakterde tüberküllerin oluşması ile beliren kronik, bulaşıcı ve zoonoz karakterde bakteriyel bir hastalıktır (Arda 1997). Türkiye'de Hayvan Sağlığı Zabıtası Kanunu'na göre sığır tüberkülozu ihbari mecburi ve müdahalesi zorunlu bir hastalıktır (Anonim 1986).

Tüberküloz evcil hayvanlar arasında en sık sığırlarda görülmekle beraber kedi, köpek, domuz, kanatlılar ve birçok yabani hayvanda da görülmektedir. Hastalığın etkeni Mikobakterium genusuna bağlı bakterilerdir. *Mycobacterium bovis* sığırda, *Mycobacterium tuberculosis* insanda ve *Mycobacterium avium* kanatlılarda tüberkülozun başlıca etkenleridir (Waters ve ark 2006).

Sığırlar, çiftlik hayvanları arasında Tb'den en çok etkilenen türlerdir ve hastalık enfektif aerosol damlacıkların solunması ile; daha az olarak da alimenter, kongenital, koital ve kutanöz yollarla bulaşmaktadır (Gutierrez ve Martin1999). Tb basiline maruz kalan hayvanlarda enfeksiyonun başlayabilmesi; enfektif bakterinin dozu, konakçıdaki doğal bağışıklığın gücü ve bakterinin virulensine bağlıdır (Thoen ve ark 2006). Bu üç mekanizmanın ortaklaşa etkisi sonucu, alveoler makrofajlar tarafından fagosite edilen Tb basilleri öldürülür ise enfeksiyon meydana gelmemektedir. Fakat fagosite edilen etken makrofajlarda ürer ve makrofajları inaktive ederse enfeksiyon başlamaktadır (Raja 2004).

Sığırlarda hastalığın en çok görülen formu, bronşiol ve mediastinal lenf düğümlerinin de etkilendiği akciğer tüberkülozudur. Lezyonun ilerlemesi kan ve lenf damarları yoluyla, vücut boşlukları ve kanallar vasıtası ile olmakta ve birçok doku ve organda hastalık gelişmektedir. Akciğer, karaciğer, dalak, böbrek gibi organlarda, vücut boşluklarının yüzeyinde ve bazı olgularda genital organlarda, ileri dönemlerde beyinde tek ya da konglomere granülomlar oluşmaktadır (Cassidy 2006). Granülamatöz tüberküloz lezyonları epiteloid makrofajlar, Langhans tipi dev

hücreleri, lenfosit ve plazmasitlerin infiltrasyonu sonucu şekillenmekte, hastalık ilerlediğinde ise, granülomların merkezinde kazeifikasyon nekrozu ile kalsifikasyon şekillenmekte ve fibröz kapsülle çevrilmektedir (Pollock ve ark 2001).

1.2. Tarihçe

İnsanlık tarihi kadar eski bir hastalık olan Tb hakkında ilk bilgiler, M.Ö. 3000 yıllarında Nil nehri kıyısında, şimdiki adı ile Darabu-El-Maga olan bir kasabada yaşayan ve kanlı balgam çıkararak ölen bir kıza kadar uzanmaktadır. İsa'nın ölümünden 1000 yıl önce yaşamış olan Rahip Nesperaha'nın mumyasında Pott apsesine rastlanmıştır (Daniel 1997). Tb tarihi üzerinde çalışan araştırmacılar ise, İsa'nın doğumundan önceki ve sonraki asırlarda hastalığın belirli dalgalanmalar gösterdiğini ortaya çıkarmışlardır. M.Ö 1500–500 ve 500–0 yıllarında Nil nehri vadisinde iki Tb epidemisine rastlanmıştır. Bu salgınlardan sonra; hastalığın görülme oranı ani olarak düşmüştür. M.S. 50–1500 yıllarında Kuzey Amerika'da ve son 1000 yılda Avrupa'da çeşitli epidemiler tarif edilmiştir. Bu tür dalgalanmaların çıkışında bağışıklık sistemi, sosyo-ekonomik olaylar ve hastalığın doğal seyrinin etkisi olmuştur. Kırsal alanda yaşayan Amerikan yerlileri, buffalolardaki hastalık yapma potensi düşük atipik mikobakteriumların sağladığı bağışıklık sebebi ile bu hastalığa tutulmazken, beyaz göçmenlerin getirdiği hakiki patojen tüberküloz mikrobu ile karşılaştıklarında kısa sürede hastalanarak ağır kayıplar vermişlerdir (Nikiforuk 2000).

İlk sığır Tb'unun ne zaman tanımlandığı ise, kesin olarak bilinmemektedir. Ancak insanlara geçmesi, muhtemelen eski çağlarda sığırların evcilleştirmeye başlanması ve bu hayvanların eti ve sütü aracılığıyla onlara özgü *Mycobacterium bovis* ile karşılaşan insanlarda, özellikle boyun lenf düğümleri ve kemik Tb'unun görülmesi ile kendini göstermiştir (Nikiforuk 2000). Tb'lu hastalarda akciğer ve diğer dokulardaki patolojik değişiklikler ve tüberkül terimi ilk kez Hollandalı bilim insanı Franciscus Sylvius tarafından 1679 yılında Opera Medica'da yayımlanmıştır. İngiliz fizyolog Benjamin Martin 1720 yılında tüberküloza hayret verecek kadar küçük varlıkların sebep olduğunu, hasta insanlar ile aynı ortamda bulunmak, yemek, içmek, nefes alıp vermek ile hastalığın bulaştığını, 1810 yılında İngiliz fizyolog Carmichael sığırlardaki tüberkülozun enfekte et ve sütle insanlara bulaşabildiğini

bildirmiştir (Akay 1997, Akçay 2000). Antik tıp çağlarında tedavisi olanaksız ve herediter bir hastalık olarak tanımlanmış olan Tb'un makroskobik patolojisi ancak 1865 yılında Willemin tarafından bildirilmiştir. Literatür verilerine göre, 1868 yılında Chauveau, sığırlardan hastalıklı materyali tavşanlara yedirerek hastalığı oluşturmuş, 1872 yılında ise, Paulicki insan, sığır ve kanatlılarda tüberkül oluşumu ile seyreden hastalıkların benzer hastalıklar olduğunu açıklamıştr. 1879 yılında Conheim hastalığın özel bir etken tarafından oluşturulabildiğini ve 1882'de Alman doktor Robert Koch da etkeni, lezyonlar içinde boyayarak göstermiş ve 24 Mart 1882'de tüberküloz basilinin bulunuşunu bilim dünyasına duyurmuştur. Koch, izole ettiği patojen Tb basilini sığır serumunda saf kültürünü elde ederek, deney hayvanlarını enfekte etmiştir. Ayrıca Koch, tüberkülozlu bireylerde görülen aşırı duyarlılığı ve bağışıklığı ortaya koymuştur (Reichman ve ark 2000, Thoen ve ark 2006). Koch 1890 yılında, Tb etkenini gliserinli buyyonda üreterek tüberkülin hazırlamış ve bunu tüberküloza karşı korumada kullanmak istemiş, ancak yaptığı çalışmalarda tüberkülinin korunmada değil, teşhiste kullanılabileceğini görmüştür. Nocard ve Roux 1887 yılında %5-7 gliserinli ortamlarda kanatlı tüberküloz tipinin daha iyi ürediğini ve insan tipinin zayıf ürediğini, Pawlowski 1888 yılında etkenlerin gliserinli patatesli besi yerinde üredíklerini saptamıştır (Akay 1997). Basil, 1896'da Lehmann ve Neumannn tarafından *Mycobacterium tuberculosis* olarak adlandırılmıştır (Pritchard 1988). Strauss ve Gamelia 1891 yılında kanatlılardan *Mycobacterium tuberculosis avium'*u, Frothingam 1895 yılında *Mycobacterium paratuberculosis'*i, Theobald Smith 1896 yılında memeli Tb basilinin *Mycobacterium tuberculosis hominis* ve *Mycobacterium tuberculosis bovis* olarak iki tipi olduğunu saptamıştır (Salfinger ve Morris 1994). Griffth ve Munro (1944), canlı Tb basili içeren sütlerin tüketimden kaldırılması ile bu hastalığın insanlara bulaşmasının önlenebileceğini ileri sürmüşlerdir (Jaros ve ark 2008). Fransız bilim insanları Calmette ve Guerin 1908–1919 yılları arasında *M.bovis* suşunu 230 kez safralı, gliserinli, patates besi yerinde pasajlayarak insan, sığır, tavşan ve hamsterlerde apatojen olan ve BCG (Bacillus Calmette Guerin) olarak adlandırılan attenüe suşu elde etmişlerdir ve BCG ilk kez 1921 yılında insanlarda aşı olarak kullanılmıştır. Amerikalı mikrobiyolog Selman A. Waksman, 1943 yılında, *Streptomyces griseus*'dan streptomisini saflaştırarak Tb tedavisinde kullanmışlardır (Akay 1997, Akçay 2000, Reichman 2000, Thoen 2006). Runyon (1981), Tb basilini üreme hızı ve pigment formasyonuna göre dört sınıfa ayırmış, basili identifiye

etmeye ve mikobakterium türlerini birbirinden ayırt etmeye yarayan testleri açıklamıştır. Marks, insan klinik örneklerinden Tb basili ve oportinist mikobakteriumlerin izolasyonu esasına dayanan klasifikasyon sistemini bildirmiştir. Bu sistem üreme sıcaklığı ve önemli bazı antitüberkülozik ilaçlara duyarlılık testlerini içermektedir. Araştırıcı, epidemiyolojik çalışmalarda çok önemli olmasa bile hastaya doğru bir tanı konmasının, izole edilen suşun tür düzeyine kadar mümkün olduğunca doğru olarak identifiye edilmesine bağlı olduğunu bildirmiştir. Albert Callmette ve Camile Guerin, 1922 yılında Fransa'da BCG aşısını geliştirmişledir. Daha sonraki yıllarda streptomisin, paraamino salisilik asit, thioacetozon, isoniazid, pirozinomid, rifamisin, ethambutol Tb tedavisinde kullanılmış ve Tb tedavi edilebilir hastalıklar arasında yer almıştır (Crofton 1994).

Sığır Tb basilinin halk sağlığı konusunda ciddi bir tehlike olduğunun anlaşılmasından sonra, Avrupa ve Amerika'da zorunlu eradikasyon çalışmaları başlatılmıştır (Mclaughlın ve Moyle 1974, Collins 1985, Agun ve ark 1990). İngiltere'de 1942 yılında ineklerin %40'ının sığır Tb'u ile enfekte olduğu saptanmıştır. Bunun sonucunda yıllık üretim kaybı 2 milyon Amerikan dolarını bulmuştur. 1947 yılında insidans %20'ye düşmüştür. Sığır Tb kontrol programının maliyeti 1998–1999' da 24,8 milyon Amerikan dolarından 2005–2006'da 99,1 milyon Amerikan dolarına kadar 7 yılda yaklaşık % 400 artmıştır (Hope ve ark 2007, Defra 2007). Yalnız 2010 yılında bu maliyet 91 milyon Amerikan doları olarak hesaplanmıştır. 2050 yılına kadar sığır Tb'u olgularının epidemilerinde yükseliş olacağı ve kontrol programlarının devam edeceği düşünülerek yaklaşık 400 milyon Amerikan dolarının harcanacağı tahmin edilmektedir (Defra 2011).

Türkiye'de Tb'un varlığı 1900'lü yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. İlk sistematik araştırma 1929 yılında Hayvan Sağlık Zabıtası Kanunun kabulu ile başlamıştır. Rıza İsmail 1929 yılında, 7336 ineğe tüberkülin testi uygulayarak ilk enjeksiyonda 141 hayvanı pozitif olarak belirlemiş ve kesime sevk etmiştir. Kesime sevk edilen hayvanlardan 43 tanesinde meme, 1 tanesinde de uterus Tb'una rastlandığını bildirmiştir (İsmail 1929). 1980–1985 yılları arasında 161.022 adet hayvana tüberkülin testi uygulanmış, 50 odakta toplam 82 hayvanda Tb pozitif bulunmuştur. 1986 yılında Türkiye Tüberküloz Mücadele Projesi başlatılmış ve Türkiye 5 bölgeye ayrılarak 1. bölgeden başlamak üzere ilk yıl hayvan mevcudunun

%20'si, 2. ve 3. yıl %40'ı mücadele kapsamına alınmıştır. Bu projeye göre 1986 yılında 250.000 adet sığıra tüberkülin testi uygulanmış ve 153 odakta toplam 1983 hayvanda tüberküloz pozitif bulunmuştur. Ancak bu hastalığın Hayvan Sağlık Zabıtası Kanunu' na göre tazminatlı bir hastalık olması nedeniyle finansal sorunlar baş göstermiş ve 1987 yılında programda 591.000 sığıra tüberkülin testi uygulanması planlanmışken 64.000 sığıra tüberkülin testi uygulanmış, 96 odakta toplam 252 hayvan pozitif bulunmuştur. Sığır Tb'unun eradikasyonuna yönelik 1986 yılından bugüne kadar ülke çapında bir eradikasyon projesi uygulanmamasına karşın uzun yıllardan beri çeşitli resmi kurum ve kuruluşlardaki hayvanlarda Tb mücadelesi sürdürülmektedir. Daha sonraki çalışmalarda 1987- 1995 yılları arasında 181.500 sığıra tüberkülin testi uygulanmış ve 359 odakta 1726 sığır pozitif bulunmıştur (Akçay 2009).

Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından hazırlanan ve 2 Nisan 2009 tarihinde yürürlüğe giren Sığır Bovine Tüberkülozu Yönetmeliği'ne göre; sığır tüberkülozu ihbari mecburi bir hastalıktır. Bu yönetmeliğe göre; enfekte hayvanın bulunduğu sürüdeki tüm sığırlar Tb yönünden muayene edilir. Sürüde resmi veteriner hekim ya da yetkilendirilmiş veteriner hekimler tarafından tüberkülin testleri uygulanır ve Tb hastalığı tespit edildiğinde Hayvan Sağlık Zabıtası Komisyonu toplanır. Resmi veteriner hekim tarafından düzenlenen hastalık raporuna göre, hastalık çıkış kararı alınır ve ilan edilir. Tb nedeniyle konulan karantina, son iki testte altı haftadan büyük tüm sığırlar tüberkülin testine negatif yanıt verene kadar devam eder. Testlerden ilki pozitif reaktörün sürüden ayrılmasından en erken altmış gün sonra, ikincisi en erken dört ay sonra ve en geç oniki ay sonra yapılmalıdır. Birinci ve ikinci test arasında en az altmış gün olmalıdır. Sığır Tb'u taşıdığı resmi olarak tespit edilen sığırlar kesime kadar izole edilir ve işaretlenir. Tb'lu sığırlar tazminatlı olarak kesime sevk edilir. Kesimi gerçekleştirilen sığırların etleri hakkında ilgili mevzuata göre işlem yapılır. Kesim sonrası, enfekte hayvanların, bu hayvanlardan çıkan materyallerin ya da bu hayvanlarla temas etmiş materyallerin ve maddelerin taşınmasından sonra bütün nakil araçları, konteynırlar ve ekipman temizlenir ve dezenfekte edilir. Bu hayvanların yükleme yerleri kullanım sonrası %5 fenol, yüksek konsantrasyonlu iodin solüsyonu, glutaraldehit ve formaldehit, %1'lik sodyum hipoklorit ve benzeri dezenfektanlarla temizlenir ve dezenfekte edilmesinin ardından

hastalığın sürüden elimine edildiğinin tespiti amacı ile söz konusu sürüde tüberkülin testleri uygulanır (Resmi Gazete 2009).

1.3. Etiyoloji

Mikobakterium, Yunanca "fungus" (myces) ve "küçük çubuk" (bacterion) kelimelerinden türetilmiştir. İsmin fungus kısmı, bu mikroorganizmanın sıvı besi yerlerinde üreme özelliklerinin küflere benzemesinden kaynaklanmaktadır. Bilimsel literatüre ilk olarak 1896'da giren mikobakterium cinsi içinde bugün 80'den fazla tür tanımlanmıştır. *M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.africanum*, *M.microti*, *M.bovis BCG*, *M.caprae* ve *M.canetti*'nin birbiriyle gösterdikleri genetik yakınlık temel alınarak bu türler '*M.tuberculosis complex*'adı altında toplanmıştır. Bunların tümü insan ve diğer memelileri etkileyen kronik granülamatöz bir hastalık olan tüberküloza neden olurlar (Behr 2001, Hussain ve ark 2007). Mikobakterium cinsi yüksek Guanin (G) ve Sitozin (C) gram pozitif bakteri sınıflandırılmasında, Corynebacterium ve Nocardia ile birlikte Actinomycetales takımında sınıflandırılmış olup, Mycobacteriaceae ailesinde yer alan tek cinstir (Metchock ve ark 1999, Prescott LM 1999). Mikobakteriumlar, 1–10 μm uzunlukta ve 0,2–0,6 μm yarıçaplı, düz veya hafif kıvrık, ince, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, aerob ortamda üreyebilen çomak şeklinde basillerdir. Mikobakteriumların hücre duvarı alışılagelmiş hücre duvarlarından oldukça farklı olup ana iskeletini peptidoglikan ve arabinogalaktan molekülleri oluşturur. Ayrıca arabinogalaktan ve glikolipitler arasında yer alan uzun zincirli doymuş yağ asitlerinden olan mikolik asit hücre duvarının önemli yapılarındandır (Köksal ve Yaman 2003). Hücre duvarının bu kompleks yapısında en iç tabaka, diğer bakterilerde de görülen plazma membranıdır. Orta tabakası peptidoglikan, arabinogalaktan, mikolik asitler, açil trehalozlar, oligosakkarid içeren lipitler ve fosfatidilinozitolün glikozil derivatlarından oluşmaktadır. Hücre duvarının en dışında bakteriye şeklini veren, hücre duvarına bütünlük ve sertlik kazandıran peptidoglikan yapısı bulunmaktadır. Benzer kor yapısı mikobakteriumlar dışında korinebakteriler ve nokardiyalarda da görülür. Mikolik asitlerin dışında çok sayıda farklı polar veya apolar yapıda nonkovalant bağlı lipit ve glikolipitler hücre duvarında yer alır. Biyolojik aktif olan bu lipitler ve glikolipitlerin bolluğu ve asimetrik dizilişleri hücre duvarına aşırı derecede hidrofobisite kazandırır. Bu yapılar içerisinde α-1,4 glukan, arabinomannan, lipomannan ve lipoarabinomannan gibi

polisakkaritler, son derece önem arz eder. Mikobakteriumların hücre duvarında gram negatif bakterilerde görülen porin proteinleri de bulunur (Kıyan 1999).

Mikobakteriumlarda mikolik asitler, tüm hücre duvarı kuru ağırlığının %50'sini, hücre lipitlerinin %60'ını oluştururlar. Mikolilarabinogalaktan peptidoglikan kompleksinde en fazla bulunan mikolik asit türü, oksitlenmiş grupları içermeyen 60 karbon büyüklüğündeki D-mikolik asitlerdir. Yapısında bir çift bağ ve siklopropan içeririr. Mikobakteriumlardaki peptidoglikan tabaka kor bölgesinin iskeletini oluşturmak üzere gram pozitif bakterilerdeki teikoik asitin bağlanmasına benzer disakkarit fosforil köprü ile heteropolissakkarit olan arabinogalaktanı kovalent olarak bağlar. Tetrapeptid yapıda yer alan diaminopimelik asitler ile lizozimlere karşı direnç kazanırlar (Angela ve ark 2006). Mikolik asitler trehalose gibi şekerlere bağlandığında 'kord faktör' oluştururlar. Virulans ile ilgili olduğu düşünülen bu faktör, hücrelerin birbirine dolanmış demetler oluşturarak paralel zincirler halinde üremelerine neden olur. Ayrıca; fagositlerin göçünü engelleyip granülom oluşmasını sağlar, lökositler üzerine toksik etki yapar. Ayrıca kord faktörü hücrelerin mitokondri zarına toksik etkilidir. Kord faktörü hepatosit mitokondriyalarının bozulmasına ve büyümesine neden olmaktadır. Karaciğer hücre ribozomlarına endoplazmik retikulum üzerinde de olumsuz etkileri bulunmaktadır (Köksal ve Yaman 2003, Altıntop 2008, Zeytinli 2010).

Mikobakteriumlar fenol içinde çözündürülen bazik-fuksin yoğun eriyiklikleri ile Kinyoun (Kinyon) ve Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) yöntemleri ile boyandıklarında aldıkları boyayı %3'lük asit alkolde dekolore edildikleri halde geri vermezler. Bu güçlü aside dirençlilik özelliklerinden dolayı, aside dirençli bakteriler (ARB) olarak da adlandırılırlar. Aside dirençlilik özellikleri laboratuvar tanısında kullanılan önemli bir kriterdir. Kinyon ve EZN boyama yönteminde renk giderme işleminden sonra zeminin boyanabilmesi için zıt boya olarak metilen mavisi kullanılır ve yapılan preparasyonlarda tüberküloz etkenleri mavi zeminde kırmızı çomaklar şeklinde görülürler (Stana ve ark 2002, Kurutepe 2006).

Mikobakteriumlar, fiziksel ve kimyasal maddelere oldukça dirençlidir. Fenol (%2), krezol (%1), formalin (%3) ve sodyum hidroksit (NaOH) (%5) içinde 4 saatte, 70–95 derecelik alkolde 10 saat içerisinde ölürler. Direkt güneş ışınlarına, ultraviyole

ışınlarına karşı duyarlıdır, pastörizasyon ısısında genellikle ölürler (Akay 1997, Yardımcı 2006).

Mikobakteriumların üremesi yavaş olup, replikasyon süresi 15–20 saattir. Gözle görünür koloni büyümesi için geçen süre en az 3 hafta olup, genellikle standart kültür ortamında 4–6 haftadır. Yumurtalı besi yerlerinde (Lowenstein-Jensen besi yeri) optimal 33–39 ^{o}C ısıda ve pH: 6,5–6,8'de %5–10 CO_2'li ortamda çoğalırlar. Ayrıca olumsuz koşullarda oldukça dayanıklı olup, bu koşullarda uzun süre canlı kalabilirler. + 4 ^{o}C'de haftalarca, -70 ^{o}C 'de yıllarca canlı kalır, +60 ^{o}C'de 20 dakikada ölür (Köksal 2003, Köksal ve Yaman 2003).

Mikobakterium türlerinin identifikasyonu ve ayırt edilmesinde halen Runyon sınıflandırılması kullanılmaktadır. Runyon, mikobakteriumları üreme hızları, üreme sırasında sarı pigment oluşturmaları ve pigment oluşumunun karanlık ya da aydınlıkta ortaya çıkmasına göre, yavaş üreyenler (7 günden fazla) ve çabuk üreyenler (7 günden daha az) olarak iki temel sınıfa ayırmıştır. Yavaş üreyen grupta yer alan; Runyon I (*Photochromogens*), ışığa maruz kaldığında sarı pigment oluştururlar (*M.kansasasii, M.marinım*), Runyon II (*Scotochromogens)*, karanlıkta ve ışıkta sarı-turuncu pigment oluştururlar (*M.scrofulaceum, M.gordonae*), Runyon III (Nonchromogenic), pigment oluşturmazlar (*M.avium-intracellulare complex, M.terrae*). Hızlı üreyen grupta bulunan, Runyon IV pigment oluşturmazlar (*M.fortitium, M.chelonae*) (Sayın 2010).

Son yıllarda özellikle Acquired Immune Deficiency Syndrome'un (AIDS) ortaya çıkışı ile birlikte, diğer bazı mikobakterium türlerinin de (*M.fortuitum* ve *M.chelorae*, *M.smegmatis* ve *M.avium complex)* klinik öneminin anlaşılması, ilginin bu türler üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur (Metchock ve ark 1999, Bilgehan 2000). *Mycobacterium tuberculosis complexi* (MTC) üyeleri genellikle konak özelliklerine göre ayrılmaktadır. *M.tuberculosis* ve *M.canetti*'nin neden olduğu Tb enfeksiyonu primer olarak insanlarda görülmekle beraber *M.tuberculosis* ile enfeksiyon, insanlarla temas eden kedi, köpek ve diğer evcil hayvanlarda da bildirilmektedir. *Mycobacterium africanum*, tropikal Avrupa'da insanlarda ve primatlarda Tb etkenidir. Tarla faresi basili olarak bilinen *M.microti* küçük kemirgenler, kediler ve domuzlarda tüberküloz nedeni olup, insanlar için de

patojendir. Sığır Tb etkeni *M.bovis*, MTC üyeleri arasında en geniş konak aralığına sahip olup, hayvanları, bazen de insanları enfekte etmektedir (Wei ve ark 2004, Mignard ve ark 2006). *M.bovis BCG* ise, *M.bovis'in* 13 yıl boyunca 230 kez pasajlanmasıyla elde edilmiş olup, tüm dünyada genellikle aşı suşu olarak kullanılmaktadır (Keatig ve ark 2005, Pereira ve ark 2007, Rıtz ve ark 2008). *M. avium* ise, kuşlar yanında sığır, yerli domuzlar, at ve koyun Tb'undan izole edilmiştir (Matlova ve ark 2005, Bartos ve ark 2006).

M.avium kompleks; M.avium ve M.intracellulare olmak üzere iki tür içermektedir. *M.avium; M.avium subsp. avium, M.avium subsp paratuberculosis ve M.avium subsp. sylvaticum* olarak üç alt türü içermektedir. *M.avium subsp. avium, M.avium subsp. sylvaticum*; kanatlılarda tüberküloz; sığırlarda ve insanlarda lenf düğümü ve AIDS'li kişilerde akciğer enfeksiyonlarına neden olurken, *M.avium subsp paratuberculosis*; ruminant ve diğer memelilerde granülomatöz enteritisle karakterize; *Johne's disease* (paratüberkülozis), insanlarda *Chron's disea*se yol açmaktadır (Allios ve ark 1996, Lucas ve ark 2000).

Kanatlı Tb'u *M.avium* ve *M.genavense* tarafından oluşturulmaktadır (Soler ve ark 2009). Kanatlı Tb'u en fazla tavuklarda bildirilmesine rağmen hindi, kaz, güvercin, deve kuşu, bıldırcın, sülün gibi evcil ve yabani kanatlılarla da tanımlanmıştır (Thoen 1997, Fulton ve Thoen 2003; Dhama ve ark 2011). Primer lezyon bağırsaklarda ülserayon şeklinde görülmekle beraber, tipik granülomlara kemik iliği, karaciğer ve dalakta rastlanmaktadır (Hsieh ve ark 2009). *M.avium* hem evcil hem de yabani kanatlı hayvanlar kadar, memeli hayvanlarda (sincap, domuz) da hastalığa sebep olmaktadır. Ancak gerek hayvanlarla temas gerekse de bu hayvanların ürünlerinin tüketilmesiyle (başta yumurta) insanlara bulaşabildiğinden halk sağlığı açısından önemli bir enfeksiyondur (Lennox ve ark 2007).

1.4. Epidemiyoloji

Sığır Tb'u, ekonomik kayıpların yanı sıra, hastalığın insanlara bulaşma kaynağı olması yönünden büyük önem taşır. Gelişmekte olan ülkelerde *M.bovis* kaynaklı insan Tb'unun oranı, Tb'un bütün formlarının üçte birinden sorumlu olarak gösterilmektedir (Bilal ve ark 2010, Eregat ve ark 2010, Aydın ve ark 2012,

Messelhausser ve ark 2012). 1996–2003 yılları arasında 10 Avrupa ülkesinde yılda 60 civarında *M.bovis* kaynaklı hasta insan tüberkülozu rapor edilmiştir. Amerika'da 11860 Tb hastasından etken identifikasyonu yapılmış ve bunlardan 165'i *M.bovis* olarak tespit edilmiştir (Michel ve ark 2010). *M.bovis* insanlara sindirim, aerosol, inhalasyon veya mukoz membranlar ve deri sıyrıklarından direkt temas ile bulaşabilir (Grange ve Yates 1994, Ashford ve ark 2001). Ancak insanlara asıl bulaşma şeklinin pastörize edilmemiş süt ve süt ürünlerinin tüketimi ile olmakla birlikte, hasta çiftlik hayvanlarının çıkardığı infeksiyöz aerosollerin inhalasyonu olduğu da gözlemlenmiştir (Lari ve ark 2006, Mignard ve ark 2006, Thoen ve ark 2006). İngiltere, Galler ve Kuzay İrlanda'da 1994-2004 yılları arasında 296 *M.bovis* ile enfekte insan vakası bildirilmiştir. Bunlardan % 49'u pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri tüketmiş ve % 37'si sığırlar ile temasta bulunmuştur. Geriye kalan % 14'ün ya çok eskiden etkeni almış kişilerde latent enfeksiyonların reaktif hale geçmesi ya da insandan insana bulaşmayla gerçekleştiği tahmin edilmektedir (Evans ve ark 2007). Enfekte sığırlarla veya yabani hayvanlarla yakın temas da bulaşmada önemli rol oynayabilir (Riacco ve ark 1992, O'Reilly ve Daborn 1995). Gelişmiş ülkelerdeki eradikasyon çalışmaları bu hastalığın prevalansını önemli ölçüde azaltmıştır, fakat yabani hayvanlardaki rezervuarın tam eradikasyonu güçtür (Thoen ve ark 2006). Sığır Tb'u eradikasyon programının uygulanmadığı ülkelerde, enfekte sütlerin tüketilmesi sonucu özellikle çocuklarda enfeksiyona sıklıkla rastlanmaktadır. *M.bovis*'in insandan insana bulaşması, immun sistemi baskılanmış (özellikle AIDS) insanlar dışında nadir görülmektedir (Fritsche ve ark 2004, Thoen ve ark 2006).

Sığır Tb'u yılın her mevsiminde rastlanmasına rağmen, kış bitişi ile Nisan-Mayıs aylarında daha sık görülmektedir (Sevcikova ve ark 1999). Kalabalık ve havalandırmanın yetersiz olduğu ahırlarda enfekte hayvanların öksürme ve tıksırmaları sonucu akciğerden atılan eksudat içindeki etkenler, bir süre havada kalır ve sağlam hayvanların, Tb basilini taşıyan toz ve nem taneciklerin inhalasyonu (aerosol) ile hastalık bulaşmaktadır. Tüberküloz enfeksiyonunun başlayabilmesi için enfektif mikobakteriumları içeren küçük damlacıkların (yaklaşık 1-2 mm) alveoler yüzeylere ulaşması gerekmektedir (Barlow ve ark 1999, Sevcikova ve ark 1999, Aydın ve ark 2006, Aytekin ve ark 2009). Enfekte sütün emilmesi, kontamine mera veya sulardan direkt olarak *M.bovis'*in alınmasıyla sindirim yolu ile de bulaşma olmaktadır (Bolard ve ark 2012).

Eğer üreme organları enfekte olursa genital bulaşma meydana gelebilmektedir, fakat bu tür bulaşma nadirdir. Testislerinde tüberküloz bulunduran boğaların doğal aşım ve suni tohumlamada kullanılmasıyla dişileri enfekte edebileceği gibi uterus ve vaginasında Tb lezyonu bulunan ineklerden gelen akıntılar da çevreye bulaşabilmektedir (Ribeiro ve ark 2012). Yavrular intrauterin hayatta etkeni almaları sonucu ya aborte olur veya normal olarak doğabilir. Uterus Tb'una bağlanan konjenital Tb, fötusa V. umblicalis yolu ile bulaşabilmektedir. Karaciğer ve portal lenf düğümünden görülen primer kompleks Tb lezyonları konjenital enfeksiyona bağlanmaktadır (Morrison ve ark 2000).

M.bovis, yabani hayvan rezervuarı sığırlar için enfeksiyon kaynağıdır (OIE 2008b). Bu hayvanlar; İngiltere'de Avrasya porsuğu (*Meles meles*), Yeni Zelanda 'da fırça kuyruklu possum (*Trichasurus vulpecula*) , Amerika'da beyaz kuyruklu geyik (*Odocoileya virginianus*), Afrika'da vahşi Afrika mandasıdır (Hope ve ark 2007).

Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde çok sayıda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda sığırlarda yaş faktörünün önemli risk faktörlerinden biri olduğu vurgulanmıştır ve Tanzanya, Zambia, Çad'da yürütülen çalışmalarda yaşlı hayvanlar genç hayvanlara göre daha fazla etkilenmektedirler (Cleaveland ve ark 2007, Inongolet ve ark 2008, Munyeme ve ark 2008a). Buzağılar genç yaşta enfekte olsalar dahi, klinik semptomlar yaşın ilerlemesi ile ortaya çıkmaktadır (Griffin ve ark 1996). Afrika'da yürütülen bir diğer çalışmada önemli bir risk faktörünün de cinsiyet olduğu ifade edilmiştir. Nitekim 5692 yerli ve 244 adet egzotik sığırdan alınan kesitte, dişi sığırların erkeklere göre daha fazla etkilendiği ortaya konmuştur (Kazwala ve ark 2001). Sürü büyüklüğü de bir diğer risk faktörünü oluşturmaktadır. Sürü büyüklüğünün artması ile hasta sığırların bulaştırdığı mera ve otlaklardan sindirim yolu ile enfeksiyonun çok daha kolay şekillenebileceği ve yayılma riskini artıracağı ortaya konulmuştur (Olea-Popelka ve ark 2004, Porphre ve ark 2008). Ayrıca bulaşmada aerojenik yolun önemliliği de ispatlanmıştır. Merada sürü halinde sığırların, su içme noktalarına toplanması sırasında oluşturdukları toz bulutu nedeniyle damlacık enfeksiyonunun çok daha kolay şekillendirdiği öne sürülmüştür.(Costella ve ark 1998, Crawshaw ve ark 2008).

İrlanda'da yapılan bir çalışmada aşırı dar ve havalandırması yetersiz, hijyen eksikliği olan ahırlardaki stres faktörlerinin hastalık riskini artırdığını, hayvanların direncin azalttığı öne sürülmüştür (Griffin ve ark 1996). Beslenme alışkanlıkları risk faktörü olarak yalnızca gelişmiş ülkelerde incelenmiştir. 2004 senesinde yapılan bir araştırmada, slajla beslenmenin stres faktörlerini daha fazla artırdığı gösterilmiştir (Ameni ve ark 2006, Reilly ve ark 2007).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, *M.bovis* ile enfekte porsukların sığırlar için önemli bir enfeksiyon kaynağı olabileceğini göstermiştir (De Lisle ve ark 2001, Norton ve ark 2005, Mumyeme ve ark 2008). Ayrıca enfekte porsuklar ekstretleri ile etkeni saçarak bir rezervuar görevi yapmaktadir. İngiliz bilim insanları araştırmada enfekte porsukların ekstretlerinin mera, saman ve sulara bulaştırdıklarını, bakterilerle bulaşık su ve yemi alan sığırların etkeni aldıklarını tespit etmişler, basilin zamanla kuruyup uzun süre canlı kalmasının anlaşılması ile damlacık enfeksiyonun daha kolay meydana geleceğini ifade etmişlerdir (Mathews ve ark 2006, Reilly ve ark 2007). Ayrıca çalışmalar, porsuk idrarının bronşial eksudat ($73x10^3$ cfu/ML) ve dışkıya göre daha dirençli basil ($217x\ 10^3$ cfu/Ml) içerdiği ve etkenlerin solunması ile enfeksiyonun daha çabuk geliştiği gösterilmştir (Scantlebury ve ark 2004, Marion ve ark 2008).

Geçmiş dönemlerde *M.bovis*'ten kaynaklanan enfeksiyona oldukça çok rastlanmakta idi. Mposhy ve ark (1983) Zaire'de insanlarda *M.bovis*'ten kaynaklanan enfeksiyonların sıklık nedenlerini açıklamak amacıyla yaptıkları araştırmalarda, halkın sığır idrarı ile ellerini yıkayarak süt kaplarını temizlediklerini, sığır gübresi ile yiyecek sepetlerini sıvadıklarını ve bu gibi mikroplu sütü çiğ olarak kaymak ve tereyağı yapımında kullandıklarını saptamışlardır.

M.bovis'in neden olduğu ekstrapulmoner olgular enfekte süt tüketimi ile ilişkili olup, hemen hemen dünyanın her yerinde sütün kaynatılarak tüketilmesi ve sütün pastörizasyon tesislerinin gelişmesi ile enfeksiyonunun sindirim yolu ile bulaşma olasılığının daha az önemli hale getirildiği düşünülmektedir. Ancak et endüstrisi ve kesimhane çalışanları arasında enfeksiyonun solunum yolu ile daha sıklıkla bulaşmasından söz edilmektedir (Thoen ve ark 2006). Her ne kadar gelişmiş ülkelerde insanlarda *M.bovis* enfeksiyonu; sütün pastörizasyonu, hayvan

bakıcılarının izlenmesi ve çiftlik hayvanlarının tüberkülin testi ile taranması ile kontrol altına alınmış olsa da, son yıllarda *M.bovis*'in sebep olduğu insan enfeksiyonlarının, çok önceden alınan etkenlerin endojen reaktivasyonla ortaya çıkmasına bağlı olabileceği bildirilmektedir. HIV ve *M.bovis* ile ko-enfekte kişilerde yapılan çalışmalarla, immünsüprese hastalarda Tb'un fırsatçı enfeksiyon olarak ortaya çıktığı gösterilmiştir (Romero ve ark 2006).

Gelişmiş ülkelerde, *M.bovis*'in neden olduğu insan Tb insidansının, sütlerin pastörizasyonu ve başarılı sığır Tb'u eradikasyon programlarını takiben azaldığı bildirilmektedir. Ancak Amerikan Genel Sağlık Kuruluşu ve WHO tarafından, Güney Amerika'da her yıl *M.bovis*'in neden olduğu 7000 yeni insan Tb olgusunun varlığından söz edilmekte bildirildiğini ve gerçek insidansın 8 kat daha yüksek olduğu tahmin edilmektedir (Wei ve ark 2004). Çeşitli ülkelerde bildirilen sığır Tb enfeksiyonunun taşınmasında insanların da *M.bovis* enfeksiyonuna yönelik doğru bilginin ise sınırlı ve verilerin oldukça tartışmalı olduğu bildirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 1998'deki raporuna göre tüm dünyadaki Tb vakalarının %10'u *M.bovis* kaynaklıdır ve bu oran Afrika ülkelerinde % 0,4–10 arasındadır. Bu rakamlar balgam isolatlarından tespit edilen oranları vermektedir. Semptomatik hastalarda *M.bovis* tespit edilme oranı, Meksika'da % 13,8, Uganda'da % 6,9 Nijerya'da % 5, Tayvan'da % 0,5 ve on Latin Amerika ülkesinde % 0–2,5 arasındadır. Uganda ve Tanzanya'da kırsal bölgelerde yaşayan tüberkülozlu insanlardan izole edilen *M.tuberculosis komplex* türlerden ise % 18-30'unda *M.bovis* bulunmuştur (Michel ve ark 2010). Ayrıca, birçok olguda *M.bovis'*in klinik ve patolojik özellikleri *M.tuberculosis* enfeksiyonundan ayırt edilememektedir (Baker ve ark 2006, Lari ve ark 2006, Rodwell ve ark 2008).

İnsanlardan kapalı temas halinde yaşayan hayvanlara *M.tuberculosis* sıklıkla geçebilmektedir. Hayvanat bahçesi gibi yerlerde bulunan vahşi hayvanlarda bu etkene sık sık rastlanmaktadır. Güney Afrika'da Ulusal Zooloji Parkı'nda 11 yıl süren epidemiyolojik bir çalışmada, parkı ziyaret eden insanlardan hayvanlara sıklıkla *M.tuberculosis* bulaştığı gözlemlenmiş; son yıllarda *M.tuberculosis* ile enfekte sığırlar da rapor edilmiştir. *M.tuberculosis* sığırlarda ilerleyici değidir ve genellikle birkaç farklı lenf nodülünde küçük granülomların gelişmesiyle kendini gösterir (Michel ve ark 2010).

Türkiye'de sığır Tb'u ile ilgili çalışmalar 1900'lü yılların başında başlamış ve hastalığın insidansı hakkında sağlıklı veri elde edilememiştir (Solmaz ve ark 2006). Günümüzde yapılan çalışmalarda zoonotik Tb olgu prevalansını gösteren epidemiyolojik veriler hala yetersizdir. Kars'ta sığırlarda *M.bovis* DNA'sını tespit eden PZR yöntemiyle *M.bovis* prevalansı % 6,7 olarak bildirilmiştir (Ünver ve ark 2007). Elazığ'da insanlarda Tb'lu hastaların balgam örneklerinde kültür , PZR ve Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) yöntemleriyle % 86,3 oranında *Mycobacterium tuberculosis kompleksi* ve % 13,7 oranında Tb dışı mikobakteriumlar izole edilmiştir (Ağaçayak ve ark 2007). Kayseri bölgesinde yapılan bir çalışmada sığırlarda tüberküloz prevalansı % 1,49 olarak saptamış ve BACTEC radyometrik metodun *M.bovis'*i saptamada hızlı ve duyarlı bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Gümüşsoy ve ark 2007). Van bölgesinde yapılan bir çalışmada sığırların burun akıntısı ve süt örneklerinde PCR ile %1.4 oranında *M.bovis* belirlenmiştir (Solmaz ve ark 2006).

1.5. Klinik Bulgular

Sığır Tb'una yakalanan sığırların çoğu klinik olarak normaldir. Tb etkeninin yerleştiği yere göre çeşitli semptomlar ve lezyonlar görülmektedir. Yaygın milier Tb lezyonları gösteren bazı inekler klinik olarak normal görülürler, fakat diğer belirtilerle ilişkili olmayan aşırı zayıflama Tb şüphesini artırır. İnip çıkan ateşte çoğunlukla hastalıkla ilişklidir. Akciğer Tb'u; solunum güçlüğü ve düşük derecede pnömoni belirtileri ile birlikte, kronik öksürük, bronşiyal ve mediastinal lenf yumrularının büyümesi ve bunların yaptığı basınçtan dolayı dispne ile karakterizedir. Etkilenen hayvanlar uysaldır ve hareketsizdir, fakat gözler parlaktır (Wei ve ark 2004). Bunun dışında alimenter kanalda, epididimiste, uterusta, memede de kendine has semptomların görüldüğü bildirilmiştir (OIE 2008a). Bağırsak Tb'unda sancı, ishal, kabızlık, kataral ve kanlı dışkı; meme Tb'unda memede sert şişkinlikler ve şeklinde bozukluk, ileri dönemlerde sütün kanlı ve pıhtılı olması söz konusudur (Wei ve ark 2004).

1.6. Patogenezis

Hayvanlarda Tb etkenleri genellikle vücuda solunum ve sindirim yolu ile girer. Sığırlarda enfeksiyon solunum ve alimenter yolla olur. Bunun dışında etkenin vücuda girişi genital sistem organları ile deride mevcut portantrelerden ve konjenital enfeksiyonlarda V.umblicalis yolu ile olabilmektedir. Ancak deri ile bulaşmaya pek rastlanmamaktadır (Collins ve ark 2000, Neill ve ark 2001). Geçmişten günümüze solunum ve sindirim yollarından hangisinin daha önemli olduğu bazı araştırmacılar arasında önemli fikir ayrılıklarına yol açmıştır (Collins 1985, Jubb ve ark 1985). Von Behring 1903 yılında tüberküloz basilinin sindirim kanalı mukozasından vücuda girdiğini ve burada bir lezyon oluşturmadan hemen kan dolaşımı yolu ile akciğerlere ulaştığını savunmuştur (Behring 1948). Nieberle, 1929 yılında dana ve buzağıda primer enfeksiyon odaklarının çoğunlukla bağırsaklarda yerleştiğini ancak, bu bağırsak lezyonlarının her olayda mutlaka meydana gelmeyeceğini belirtmiştir. Aynı araştırıcı 1937 yılında ilk fikrinin aksini savunurak, solunum yolu ile enfeksiyonun daha yaygın olduğunu bildirmiş ve buzağılarda karaciğer ve portal lenf düğümünde görülen lezyonların konjenital enfeksiyonla ilgili olduğunu öne sürmüştür (Innes 1937). Stamp ise, buzağıların sindirim sistemine yerleşen lezyonları Tb'lu memeden emilen süte yorumlamış, bu görüşü günümüzde de paylaşılmaktadır (Collins 1985, Jubb ve ark 1985, Menzies ve Neill 2000). Birçok araştırmacı; yetişkin sığırlarda görülen Tb lezyonlarının aerosol yolla bulaşma sonu oluştuğu fikrinde birleşmişlerdir (Barlow ve ark 1999, Sevcikova ve ark 1999, Aydın ve ark 2006).

Duyarlı konakçının vücuduna giren ve üst solunum yollarındaki mukosilier bariyerden geçerek alveol boşluklara ulaşabilen virulent mikroorganizmalar burada hücresel dejenerasyona ve nekroza neden olurlar (primer efekt). Burada bakteriler makrofajlarca fagosite edilerek bu organlardaki lenf yumrularına giderek tüberküllerin oluşmasına neden olurlar (primer kompleks). Primer kompleks genellikle canlının ilk enfeksiyonunda görülür. Canlının yaşına ve direncine bağlı olarak bu lezyonların iyileşebileceği veya lokalize kalabileceği gibi (tam olmayan primer kompleks), direncin zayıfladığı durumlarda lokalize olduğu odaklarda yeniden üremeye başlayarak kan yolu ile diğer organ ve dokulara yayılabilmektedir. Bu organlarda çok sayıda küçük tüberküllerin (milier tuberküloz) oluşmasına neden olur. Vücutlarında primer kompleks bulunan bireyler yeniden mikroorganizma ile

enfekte olabilirler ve/veya kronik organ Tb'u şekillenebilir. Vücut direnci zayıf bireylerde bu tip generalizasyonlarda (geç generalizasyon) hastalık çabuk gelişerek bireyin ölümüne neden olabilmektedir (Bilgehan 1990, Akay 1997).

Tb'da görülen asıl değişimler büyük oranda yerel basil antijen konsantrasyonuna ve aşırı duyarlılık reaksiyonunun derecesine bağlıdır. Yerel antijen yükünün ya da doku hasarlayıcı immun yanıtın fazla olduğu durumlarda eksudatif lezyonlar; antijen yükünün ya da doku hasarlayıcı yanıtın az olduğu durumlarda ise, proliferatif lezyonlar ortaya çıkar. Çoğu olgularda bu iki lezyon tipinin bir arada olduğu karışık lezyonlar daha yaygındır. Yerel antijen yüküne göre lezyonlar ilerleyebilir, tip değiştirebilir, stabil kalabilir, hatta gerileyebilir. Proliferatif veya prodüktif lezyonlar, Tb granülasyon dokusu ile karakterizedir. Akciğerlerde lenfohematojen yayılım odaklarında oluşan ilk lezyonların yayılımını önlemek için konakçı tarafından bu lezyonların etrafına inaktif makrofajların toplanmasıyla Tb'a özgü granülomlar (tüberküller) oluşturulur. Böylece lezyonlu bölge sağlam olan komşu dokudan ayrılarak hem basillerin çoğalması hem de yayılması önlemiş olur. Burada, merkezde yan yana dizilen makrofajlar ve bunları çevreleyen fibröz doku ve lenfositler bulunur. Zamanla makrofajlar epiteloid hücreye dönüşürler. Epiteloid hücreler büyük veziküler çekirdekli, belirsiz sınırlı büyük soluk sitoplazmalı hücrelerdir. Sitoplazmalarında sindirilmiş basiller bulunur ve yapısal değişiklikler artmış bakterisidal aktiviteyi gösterir. Epiteloid hücrelerle karışık olarak değişen sayıda Langhans tipi dev hücreleri görülür. Bunlar değişik sayıda ekzantrik çekirdekli büyük hücreler olup, makrofajların kaynaşmasıyla şekillenmişlerdir. Yeni tüberküllerin merkezinde epiteloid hücreler ve Langhans tipi dev hücrelere rastlanır. Çevrelerinde dar bir şerit tarzında histiyosit, lenfosit ve plazma hücreleri bulunur (Neill ve ark 2001). Gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu sırasında oluşan nekrotik bölgeden sızan basiller, yerel makrofajlar tarafından tutulurlar. Yerel makrofajlar aktive olmuş ise fagosite ettikleri basilleri inaktive ederler, aktive edilmemiş ise içlerinde basiller tekrar çoğalmaya başlar. Çoğalmayı önlemek için gecikmiş tip aşırı duyarlılık yanıt tekrarlanır ve kazeöz nekroz alanları genişler (Özbal ve ark 2006). Kazeöz karakterde olan bu koagulatif nekroz sahası, tüberküle özel olan histolojik karakter kazandırır. Nekrotik materyal sarımtrak peynirimsi bir kitle şeklinde olup, ya erir ya da kalsiyum tuzlarının çökmesi ile distrofik kalsifikasyon şekillenir. Eksudatif lezyonlar, etkenin virulansının yüksek olmasının

yanı sıra, sayıca çok olmasına, hastalanan hayvanın dayanıklılığının azlığının ve bakterinin yerleştiği organın fizyolojik durumuna bağlıdır. Çoğunlukla akut olarak gelişip, fibrin içeren şiddetli bir eksudasyon ile nötrofil ve mononükleer hücrelerden oluşur. Sonuç olarak bu eksudat, geniş sahalarda pıhtılaşıp kazeifikasyona uğrayarak geniş nekrozları oluşturur (Dannenberg 1991, Li veTrush 1994).

Sığırlarda akciğerlerin hastalıktan en çok etkilenen organ olduğu belirtilmiştir. McKay (1958), incelemiş olduğu 872 vakanın %80'inde akciğerde lezyonun şekillendiğini, Diker (1989) bu oranı %78,6 ve Mcllroy ve ark (1986) ise, %73 olarak bildirmiş, Ortatatlı ve ark (1998) 53 granülomatöz pnömonili sığırdan 45'inde akciğerlerde Tb tespit etmişlerdir. Diker (1989), sığırlarda, insanlardan farklı olarak, akciğerlerde kavitasyon oluşmadığını, hemoptizinin nadiren görüldüğünü ancak, etkenden zengin balgam atılmasının yaygın olduğunu belirtmiştir. Lezyonların ise, pirinç tanesinden güvercin yumurtası büyüklüğüne kadar değişen büyüklüklerde granülomlardan oluştuğu, özellikle diyaframatik lopların dorso-kaudal bölgelerinde subplevral olarak lokalize olduğu ve bunun nedeninin ise, bu alanların kötü ventilasyonundan dolayı bu etkenin üremesi için uygun ortam olduğu şeklinde açıklanmıştır (Diker 1989). Akciğerler ile birlikte mediastinal ve bronşial lenf düğümlerinin sığırlarda etkilenen dokular olduğu ifade edilmiş; McKay (1958) bu oranı %89 ve Diker (1989) ise %98,7 olarak açıklamıştır.

Sığırlarda sindirim kanalı lezyonları, genellikle akut generalize enfeksiyonlarda hematojen yayılma sonucu şekillenmektedir. Abomazum lezyonlarına nadiren rastlanmakla birlikte, abomazum mukozasında yaklaşık 1 cm çapında ülserler oluşmaktadır (McKay 1959).

Sığırlarda karaciğer Tb'nun özellikle periton tüberkülozu vakalarında oluştuğu, tüm yaşlarda abdominal boşluktaki Tb'un önemli bir belirtisi olduğu ve %35 oranında lezyon bulunduğu açıklanmıştır (McKay 1959). Diker (1989) bir çalışmasında olguların %29,2'sinde karaciğerde lezyonlar bildirmiş ve bu lezyonların çoğunlukla kapsülada toplu iğne başı büyüklüğünden bezelye büyüklüğüne değişen büyüklükte ve bazen kazeo-purulent yapıda olduğunu ifade etmiştir. Ayrıca karaciğer Tb'unda safra kanallarının Tb basili içerdiğini ve etkeni bağırsaklara taşıdığı da rapor edilmiştir (McKay 1959).

Dalak sığır tübekülozunda sıklıkla etkilenmektedir. Özellikle konjenital enfeksiyonların önemli belirtisi olduğu ve bu olayların %50'sinde organda lezyon bulunduğu belirtilmiştir (McKay 1959, Hadley ve ark 1991). Dalakta granülomların özellikle subkapsüler oluştuğu, enfeksiyonun erken dönemlerinde pirinç ya da bezelye büyüklüğünde hemorajik, fibröz karakterde granülomların olduğunu ifade edilmiştir (McKay 1959).

Böbrek tüberkülozunun generalize miliyer Tb'un bir kısmını oluşturduğu, nadiren unilateral olarak oluştuğu bildirilmiştir. Vakaların büyük bir kısmında lezyonların, korteks ve medullada küçük ve düzensiz granüllerden oluştuğu, % 5 oranında görüldüğü ve bunların %50 sinde adrenal bezlerin de etkilendiği kaydedilmiştir (McKay 1959).

Sığırlarda, insanların aksine, larinks Tb'una nadiren rastlandığı ve lezyonun mukozada küçük ülserler ya da papillomatöz hipertrofi biçiminde olduğu ve larinksin etkilenmesinin, enfekte balgamın buradan sürekli pasajına bağlı ve enfeksiyonun seyrek olarak hematojen yolla oluştuğu ifade edilmiştir (McKay 1958).

Sığırlarda Tb'un seyrek olarak merkezi sinir sistemine yerleştiği (%0,6) ve lezyonların hematojen orjinli olduğu belirtilmiştir. Ancak konjenital olarak enfekte olan hayvanlarda sıklıkla lateral ventrikülüsler, beyin hemisferleri ve medulla oblangataya yerleşen multiple nodüllerin bulunduğu ve genel bir kural olarak beyin dokusuna yerleştiği rapor edilmiştir (McKay 1959).

1.7. İmmünopatoloji

Pulmoner Tb enfeksiyonu, basillerin inhalasyon yolu ile organizmaya girişiyle başlamaktadır. 5 µm'dan büyük partiküller, lizozim, laktoferrin gibi antibakteriyel sekresyon içeren üst solunum yollarının silyalı epitelyumu tarafından tutulurken, küçük partiküller alveollere ulaşmakta ve alveoler makrofajlar tarafından fagosite edilmektedir. Tb basilinin histolitik enzimleri ve toksinleri yoktur, virulans özellikleri büyük oranda sitoplazmik zarın dışında kalan yapılar ve salgıladığı proteinlerce oluşmaktadır (Özbal ve ark 2006, Wilfret ve ark 2006).

Tb'a karşı konak yanıtında, hem doğal hem de kazanılmış immünite rol oynamaktadır (Raja 2004).

1.7.1. Doğal İmmunite

Enfeksiyöz etken, ilk karşılaşmada doğal savunma yollarıyla dışarı atılır veya öldürülür. Doğal savunma, kazanılan immünite gelişinceye kadar enfeksiyonu kontrol altında tutmada önemlidir (Kıyan 1999, Raja 2004). Doğal immünitede makrofajlar, nötrofiller, dentrik hücreler ve naturel killer (NK) hücreler görev alsa da esas sorumlu olan makrofajlar ve salgıladıkları IL-12'dir. Makrofajlar, basili tanıyıp fagosite etme, fagozom-lizozom birleşmesi, basilin çoğalmasının inhibasyonu ve/ veya öldürülmesi, diğer immun sistem hücrelerinin kemotaksisine ve kazanılmış immun yanıtın başlaması için öncülük yapan hücrelerdir (Raja 2004).

Nötrofiller ve NK hücreleri, organizmanın basille karşılaşması sonu olay yerine ilk gelen hücrelerdir. Nötrofiller, bakterilerin fagositozu, oksijene bağımlı öldürme mekanizmaları veya hücre dışı degranülasyon ürünleri ile konak bağışıklık sistemine katkı sağlarlar. NK hücreler ise, direkt basilleri öldürür veya ilerleyen aşamalarda basille enfekte hücrelerin apoptozunda rol oynar. Gamma-interferon (IFN-γ) salgılayarak makrofajları uyarır ve aktive makrofajların IL-12 salgılamalarını ve doğal immun yanıtın başlamasını sağlarlar (Raja 2004).

Makrofaj-basil bağlanması ve fagolizozom oluşumu

Makrofajların yüzeyinde kompleman reseptörleri (CR1, CR2,CR3,CR4), mannoz reseptörleri (MR) ve IL-10, IFN-γ, TNFα, CD14, Tool Like Reseptör (TLR1,2,3,4) ler gibi hücre yüzey reseptörleri, makromoleküllerin yakalanmasını sağlayan çöpçü reseptörleri yer almaktadır. Bu reseptörler mikobakterilerin makrofajlar tarafından tutulması ve fagosite edilmesinde rol oynamaktadırlar (Raja 2004).

Mikobakteriumun hücre duvar yapısında bulunan LAM (Lipoarabinomannan), mannoz reseptörlerine bağlanır. Mannoz bağlı LAM virulan

mikobakterium türlerinde bulunur, bağlanmanın yanı sıra makrofaj yanıtını inhibe ederek, mikobakteriumun hücre içinde yaşamasını sağlar. LAM, enfekte makrofajlardan kemoatraktant kemokin (monocyte chemoat tractant protein-1: MCP-1, regulated on activation normal T cell expressed and secreted: RANTES) ve IL (özellikle IL-8) yapımını sağlar. Bu kemokinler, enfeksiyon odağına makrofaj, monosit, nötrofil ve T lenfosit kemotaksisine neden olur (Raja 2004, Özbal 2006).

Basil makrofaj içine alındıktan sonra, fagolizozom füzyonu olur ve intralizozomal asit hidrolazlar bakterinin sindirilmesi için boşaltılır. Böylece ortamın pH'sı düşer, basiller lizozomal proteolitik enzimlerin etkisi, reaktif oksijen ve nitrojen ara ürünlerinin (H_2O_2 ve RNI) üretilmesi ile yok edilmeye çalışılır (Ferguson ve ark 1997). IFN-γ ve TNF-α'nin fagositleri uyarması ile H_2O_2 ve RNI'nin sentezi artar. NO sentez L-arginini substrat olarak kullanarak RNI oluşturur. NO sentez geninde defekt olan farelerde Tb basilinin daha hızlı replike olduğu gösterilmiştir (MacMicking ve ark 1997). Ayrıca 1,25 hidroksi vitamin D3'ün de NO sentez enziminin sentezini artırdığı ve bu sayede mikobakterium üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Rockett ve ark 1998).

Mikobakteriyel sülfatidler ve kord faktör, fagolizozomal füzyonu inhibe etmekte ve basilin makrofaj içinde çoğalarak yaşamasına devam etmesini sağlamaktadır (Dannenberg 1993). 9kDa lipoproteini ise TLR-2 üzerinden makrofajların IL-12 üretimini inhibe etmektedir (Steward ve ark 2005).

Makrofaj içerisinde peptid antijenlerine parçalanmış olan mikobakterium proteinleri, major histokompatibilite komplex (MHC) sınıf II molekülleri yardımıyla, CD4 t-lenfositlere sunulur. Antijenlerin sunumu öncesinde hücre içerisindeki işlenmesi, protein antijenlere karşı spesifik immünitenin temelini oluşturmaktadır. Makrofaj içinde fagozomdan kurtulan antijenler ise, MHC sınıf I molekülleri ile CD8 T-lenfositlere sunulmaktadır (Teixeira ve ark 2007). T lenfositlerin salgıladığı IL-2, hem kendi aktivasyonlarını artırmakta hem de diğer T lenfositlerinin olay yerine gelmelerini sağlamaktadır. CD8 T lenfositler, perforin, granzim ve granülizinleri ile de basile ve basille enfekte hücrelere karşı sitolitik aktive gösterirler (Raja 2004).

Mikobakterium antijenleri tarafından uyarılmış olan makrofajlar IL-1,IL-6,IL-12,IL-18,IL-23, IFN-γ ve TNF-α gibi sitokinleri salgılamaktadır. Özellikle IFN-γ ve IL-12 ile uyarılan CD4+ T hücrelerinden salgılanan IFNγ, makrofajların aktivasyonlarını ve yüzeylerindeki MHC II ekspresyonunu daha da artırır, monositleri ve nötrofilleri ortama çağırır ve granülom oluşumu başlar. Bu şekilde opsonizasyon, kompleman aktivasyonu ve fagositoz kolaylaşmakta, basilin sindirilerek yok edilmesi sağlanmaktadır (Dannenberg 1993, Ferguson ve ark 1995).

Apoptozis

Apoptozis, enfekte alveoler makrofajlar ve diğer fagositik hücrelerde bakteri üremesinin sınırlandırılması ve enfeksiyonun yayılmasının önlenmesinde etkili olan programlı ölüm mekanizmasıdır (Özbal 2006). Aktive makrofajlar ve dentritik hücrelerden salınan TNF-α apoptozda etkili sitokinlerdendir.

Makrofaj apoptozu granülom içinde meydana gelmektedir. Granülomlar, merkezlerinde kazeifikasyon nekrozu, çevresinde de apopitotik makrofajlar ve lenfositlerden oluşur. Granülom içerisindeki makrofajlar, pro-apopitotik molekül Bax 1 eksprese ederler. Bcl-2 ise, anti-apopitotik moleküldür. Bax, granülom içinde meydana gelen hücre içi sinyallerle tetiklenen apoptoz yolunu aktive eder (Fairbairn 2004).

Apoptoza giden makrofajlarda mikobakteriumlar öldürülürken, nekroza giden makrofajlarda ölüm gerçekleşmez. Bu nedenle mikobakteriumlar, canlı bakteri sayısını azaltan makrofaj apoptozundan korunmak için TNF-α nötralizasyonu gibi farklı yollar geliştirirler (Fairbairn 2004).

IL-2 ve TNF-α, CD8 T lenfositleri aktive eder ve NK hücre aktivitesini artırır (Keane ve ark 2000). Makrofajlar bakterileri fagosite edip öldürürken, NK hücreleri ve CD8 T lenfositler, granül ekzositoz ve fas-fas-L yoluyla direkt basilleri veya basiller ile birlikte makrofajları öldürürler (Raja 2004, Özbal 2006). CD8 T lenfositlerin bir diğer makrofaj öldürme mekanizması perforin aracılığı ile makrofaj membranında delikler oluşturarak granzim A, granzim B (serin proteaz) ve

granülozin gibi toksik proteinlerin hücre içine girişinin sağlanmasıdır (Flynn ve ark 1992, Lazarevic ve Flynn 2002).

Genetik Faktörler

Tb basili ile karşılaşma sonrası, konağın immün yanıtının belirlenmesinde genetik yapı belirleyici faktörlerdendir (Özbal ve ark 2006, Morcillo ve ark 2007). Genetik olarak dirençli konakta makrofajlar basili yok ederken, duyarlı konakta basil makrofajlar içinde hızla çoğalmaktadır (Morcillo ve ark 2007).

Tb genetiğinde, en çok üzerinde durulan genetik faktörler; HLA tipleri, vitamin D reseptörleri, mannoz bağlayan lektin (MBL), TNF-α ve IL-1, natural resistance associated macrophage proteın gene 1 (NRAMP 1) geni ve IFN-γ'dır (Ryu ve ark 2000, Karahan ve Akar 2002).

Basilin makrofaj yanıtı bozması; fagolizozomdaki düşük pH'nın nötralizasyonu, hücre duvar yapısındaki lipitler ile makrofajların lizozomal hidrolitik enzimlerine (lizozim, lipaz, fosfotaz) direnç gelişmesi, reaktif oksijen ara ürünlerinin etkisinin inhibisyonu, makrofaj aktive edici moleküllerin sentezinin önlenmesi ile basil fagolizozomun öldürücü etkisinden kurtulabilmektedir (Kıyan ve ark 1999, Özbal ve ark 2006).

1.7.2. Kazanılmış İmmunite

Hücresel immün yanıt, T hücre aktivasyonu ve bunların efektör işlevleri ile yürütülürken, hümoral immun yanıt ise, B lenfosit olgunlaşması ve antikor sentezi ile sağlanmaktadır (Raja 2004, Nikold 2007). Her iki immün yanıt hücreleri arasında önemli etkileşimler gerçekleşmektedir. T lenfositler antikor gelişimine, immünglobülin izotip değişimine ve bellek oluşumuna katkı sağlarken, B lenfositler antijen sunan hücreler olarak T lenfositlere destek olmaktadır (Raja 2004).

Konak, basille ilk karşılaşmadan sonra, basil duvarında bulunan lipit tüberküloproteinler tarafından indüklenen özgül hücresel immün yanıt (hücresel immün yanıt ve gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu) kazanır. Kazanılan

immünite, tüberküloz basillerinin enfeksiyon odağında lokalize kalmalarını sağlar (Özbal 2006).

Hücresel İmmünite

Hüceresel immünitede makrofajlar, dendritik hücreler, sitokinler ve T lenfositler yer alır. (Raja ve ark 2004, Nicold ve ark 2007).

Hücresel cevap, latent tüberküloz basilini öldüren ya da içine alan makrofajların üretilmesi olarak da düşünülmektedir. Makrofaj ve dendritik hücreler gibi antijen sunucu hücreler MHC-II molekülleriyle T lenfositlere antijenleri sunarlar. Antijen taşıyan CD4+ yardımcı T lenfositler (CD4+TH), başta IFN-γ olmak üzere diğer sitokinleri salarak makrofajları aktive ederler. Böylece aktif makrofajların içerdikleri basilleri öldürme yetenekleri artar (Fulton ve ark 2000, Feng ve ark 2001). Lenf düğümlerinde CD4+TH olgun dendritik hücreler etkileştiğinde CD8+ sitotoksik T lenfositler (CD8+Tc) de işlevsel hale gelmektedir. CD8+Tc, fagolizozom dışında makrofaj sitoplazmasındaki tüberküloz basiline ait antijenleri MHC I aracılığı ile sunulmasıyla tanırlar. CD4+TH 'ye ek olarak CD8 TH de MTB enfeksiyonun kontrolünde gerekli olduğu bilinmektedir, MHC I moleküllerinin fonksiyon dışı kaldığı CD8+Tc antijenin sunulamadığı farelerde; tüberküloz enfeksiyonunun özellikle akciğer Tb'unun kontrol edilemediği bildirilmiştir (Flynn ve ark 1992). Ayrıca perforin, granzim ve granulizinleri ile enfekte hücreler ve Tb basiline karşı sitolitik aktive gösterirler. CD4+TH hücreler içerisinde CD 25 molekülünü yüksek düzeyde sentezleyen regülatör T lenfositler bulunmaktadır. Regülatör T lenfositler, yüzey temasıyla CD4+TH ve CD8+Tc lenfositleri baskılamakta, IFN-γ sentezini ve hücre proliferasyonunu durdurmaktadırlar (Barcelos ve ark 2006, Chiacchio ve ark 2009). Çoğunlukla CD4+ ve CD25+ fenotipik özellikleri gösteren bu T lenfositlerin alt grubu otoimmün reaksiyonları önleyen periferik toleransı sağlamaktadır (Scott-Browne ve ark 2007).

Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Hücresel immünite, basilin vücuda girişinden itibaren makrofajlar tarafından tutulması, öldürülmesi ve/ veya üremesinin inhibisyonunda etkilidir. Gecikmiş tip

aşırı duyarlılık (hipersensitivite) reaksiyonu ise, Tb basilinin yapısında bulunan 10kDa'luk küçük proteinlerin karışımı olan tüberkülin proteinleri, LAM ve kord faktör gibi antijenlere karşı tip IV immün yanıt olarak adlandırılmaktadır (Kıyan ve ark 1999, Özbal ve ark 2006).

PPD (Pürifiye Protein Derivatı) reaksiyonu spesifik immünitenin göstergesi olan gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonudur (Whelan ve ark 2003). Lenfositlerin aktivasyonu ile salınan lenfokin ve kemotaktik faktörlerin etkisiyle yangı hücrelerin toplanmasına neden olur ve bunun sonucunda doku hasarı ve nekroz gelişir (Voldermeler 1995). Hücresel immünite ile birlikte basilin üremesini ve yayılmasını engellemektedir. Basil içeren makrofajları ve çevre dokuları yıkımlayarak basilin üremesi için gereken ortamı bozmakta ve basilin ortadan kaldırılması için hücresel immün sisteme zaman kazandırmaktadır (Dannenberg 1993). Hücresel immün sistemin yok edemediği basil sayısı ve aktive olamayan makrofaj sayısı arttıkça, buna engel olmak için gecikmiş tip hipersensitivite ve oluşturduğu nekrotik doku artacak, beraberinde hücresel harabiyet genişleyecektir. Granülom; epiteloid makrofajlar, onu çevreleyen lenfositler, fibroblastlar ve bağ dokudan oluşmuştur (Co Do ve ark 2004).

Makrofajlar tarafından basilin CD4+TH sunulması ve IL-2 salınımı, gecikmiş tip hipersensitivitenin başlamasını sağlamaktadır. Antijene spesifik olarak aktive olan CD4, TH1 lenfositlerinin antijenle tekrar karşılaşmaları sonrası Il-12 ve IFN-γ, TNF-α salınımını ve NK hücrelerinin uyarımı gerçekleşmektedir. IFN-γ, gecikmiş tip hipersensitivitenin en potent mediatörüdür. Gecikmiş tip hipersensitivite, enfeksiyonun sınırlanmasından sorumlu olmakla birlikte doku nekrozu ve kavitasyon oluşumuna neden olduğu için, akciğerlerdeki doku yıkımlanmasından sorumludur (Barnes ve ark 1994).

Sitokinler

Tip 2 interferon olarak da bilinen IFN-γ, mikobakterium enfeksiyonunun kontrolünde anahtar sitokin rolünü oynamaktadr. 12. kromozomda lokalize tek genle kodlanır ve immün reaksiyonlar sırasında antijen veya mitojenler tarafından uyarılan T lenfositlerince üretilmektedir. CD4+TH özellikle de TH1 lenfositleri, nadiren de

CD8+Tc ve NK hücreleri tarafından salgılanan bir sitokindir. IFN-γ yapımı, IL–2 aracılığıyla T lenfositlerin birbirleriyle olan aktivasyonları ve IL-12'nin T lenfositleri ve NK hücreleri uyarmasıyla düzenlenir. IFN-γ yapımından, ön planda TH1 lenfositlerinin sorumlu olduğu çalışmalarda da gösterilmiştir. Ortamda IL–2 varlığında NK hücreleri de IFN-γ salgılayabilmektedir (Brudey ve ark 2006).

IFN-γ, makrofajlardaki 1-alfa hidroksilaz enzimini uyararak aktif D3 vitaminin yapımını artırmaktadır. Vitamin D3 basillerin makrofaj içi çoğalmasını önlemede yardımcıdır ve bu hücrelerden TNF-α gibi sitokinlerin salınımını artırır. Aynı zamanda IFN-γ, vasküler endotel hücrelerinin bir aktivatorüdür, TNF-α üretimini ve endotel hücreleri üzerindeki birçok etkisini de güçlendirir. Oksijen radikalleri oluşumunu ve NO sentaz aktivitesini artırarak da nitrojen ara ürünlerinin oluşumunu artırır. IL-1 salınımını da artırır. Ayrıca lenfositlerin adezyonunu ve damar dışına çıkmalarını kolaylaştırır (Nicold ve ark 2007).

TNF-α, Tb hastalığında hem immünolojik hem de patolojik süreçte önemli etkilere sahiptir. Basil ile karşılaşma sonrası makrofajlardan, dendritik hücrelerden ve T lenfositlerden salınır. Özellikle basil duvarında bulunan LAM, TNF-α salınımı için uyarıcıdır. TNF-α, IFN-γ ile birlikte NO sentazını artırır. TNF-α, enfekte dokuya adezyon kuvvet moleküllerinin, kemokinlerin ve reseptörlerinin ekspresyonunu artırarak granülom formasyonunun gelişmesi ve enfeksiyonun sarılarak yayılımının önlenmesinde etkilidir (Raja ve ark 2004). TNF-α, aynı zamanda Tb'da görülen ateş, kilo kaybı ve hastalığa özgü doku nekrozları gibi birçok immünopatolojik olaydan sorumludur. IL-1, TNF-α ile birlikte ateş ve kaşeksi gibi akut dönem semptomlarından sorumludur; makrofajlardan salınır, T lenfositlerini uyararak enfeksiyon bölgesine gelmelerine, IL-2 reseptör ekspresyonlarında ve IL-2 salgılarında artışa yol açar (Nicold ve ark 2007). IL-2 primer olarak CD4+TH salgılanmakta, IL-2 aracılığıyla T lenfositleri birbirini uyarmaktadır. IL-2, T lenfositlerin, makrofajların ve NK hücrelerinin IFN-γ yapımını ve sitolitik aktivitelerini artırır. Tüberküloza karşı immün yanıtta özellikle de IFN-γ aracılığıyla stimülan role sahiptir (Rom ve Gray 2004).

Humoral İmmünite

Yardımcı T lenfositler tarafından salgılanan sitokinler, B lenfositler üzerine etki ederler. IL-2 B lenfosit proliferasyonuna; IL-4 aktive B hücrelerinin büyümesine, IgG ve IgE salgılamasına; IL-5 ise, B hücrelerinin IgM ve IgA salgılamasına uyarıcı etki gösterir (Mısırlıgil 1991). İmmünglobulinler, B lenfositler tarafından sentezlenen ve humoral bağışıklıkta rol alan, belirli antijen veya haptenlerin determinant gruplarına karşı oluşmuş, protein yapısında maddelerdir. Spesifik immünglobulinler Tb basilini öldürme işlevinde fazla etkili değildir, ancak fagozom-lizozom füzyonunu artırarak, indirek olarak basilin öldürülmesine katkıda bulunurlar. Ayrıca makrofaj göçünü önleyici salgıları da vardır. Mikobakteriel antijenler, IgG, IgM, IgA ile immun kompleksler oluşturabilirler. Bu kompleksler dokuda depolanıp, komplemanı aktive ederek doku harabiyetine yol açabilirler (Edwards ve Kırkpatrich 1986, Mısırlıgil 1991). Antikor yapımından, akciğerde uzun süre kalan Tb basilleri sorumlu tutulmaktadır. IgG antikorlarının üretimi için T ve B lenfositlerin etkileşimi gerekirken, IgM belli antijenlere cevap olarak yardımcı T hücrelerine ihtiyaç olmadan B hücreleri tarafından üretilebilirler. Primer enfeksiyonda serumda önce IgM, daha sonra IgG antikorları saptanabilir (Alan 2010). IgA antikorlarının üretimi ise, IgM antikorlarının yükselmesinden sonra fakat IgG antikorlarının görülmesinden önce olur. Mikobakteriumlar hücre içi bakteri olması sebebiyle humoral immün sistem basilin yok edilmesinde tek başına yetersiz kalmaktadır. BCG aşılı hayvanlardan veya enfekte insan veya hayvanlardan alınan serumun pasif transferleriyle yapılan deneysel çalışmalarda, korunmaya ait kanıtlar tam olarak elde edilememiştir (Glatman-Freedman ve Casadevall 1998).

1.8. Laboratuvar Teşhis

Klinik ve postmortem örneklerde *M.bovis*'in varlığı, boyalı preparatların incelenmesiyle gösterilebilir ve organizmanın kültürde üretilmesi ile teyit edilebilir (OIE 2004). Çevresel mikobakterium ile kontamine olan örnek kaplarının kullanılması çevresel mikobakteriumların çabuk gelişmesine bağlı olarak *M.bovis*'i identifiye etmede başarısızlıkla sonuçlanabileceği için, marazi madde alma kaplarının temiz ve steril olması gerekir (OIE 2004, Aydın ve ark 2006). Laboratuvara örneklerin erken teslimi *M.bovis*'in kültür ile elde edilme şansını

artırır, fakat teslim gecikirse, kontaminantların üremesini geciktirmek ve mikobakteriumları muhafaza etmek için örneklerin dondurulması gerekir (OIE 2004). Sıcak hava koşullarında, dondurma mümkün değilse, kontaminasyonu önlemek için, bakteriostatik madde olarak %5 w/v borik asit ilave edilebilir, fakat sınırlı bir süre için sütün bozulmasını önler, 1 haftadan daha uzun süre bozulmayı önleyemez (OIE 2004).

OIE'ye göre sığırlarda Tb enfeksiyonunun antemortem teşhisinde tüberkülin deri testi, alternatif olarak IFN-γ testi, postmortem teşhisinde; bakteriyoskopi (Ziehl-Neelsen, Floresans boyama, İmmunperoksidaz), histopatolojik muayene, kültür ve moleküler metodlar önerilmektedir (OIE 2008a).

Sığır Bovine Tüberküloz Yönetmeliği'ne göre, bir sürüde ya da bölgede enfekte ve hasta hayvanların maksimum sayısını tespit edebilmek amacı ile Tarım Bakanlığı, sığır Tb'u için tüberkülin testine ek olarak IFN-γ testinin uygulanmasına izin verebilmektedir (Resmi Gazate 2009).

1.8.1. Bakteriyoskopi

Aside dirençli bakteriler hücre duvarında yer alan yüksek miktardaki lipitler nedeniyle zor boyanırlar. Aside dirençli bakterilerde hücre duvarı bir kez boyayı aldıktan sonra, asit alkolle dekolarize edilse bile bırakılmaz. Bu nedenle, aside dirençli olarak adlandırılırlar. Boyama yöntemlerinde aside dirençli bakteriler ilk uygulanan boyanın rengini alırken, diğer bakteriler dekolarizasyondan sonra uygulanan zıt boyanın rengini alırlar. Örnekte basilin gösterilebilmesi için mililitrede 5000-10.000 bakteri bulunmalıdır (Mukherje ve ark 2002).

Hazırlanmış preparatlarda mikobakteriumları görmek için iki tür boyama yöntemi kullanılır. Bazik fuksin (karbol fuksin) boyasının kullanıldığı Ziehl-Neelsen (ZN) ve Kinyoun boyama yöntemlerinde mikobakteriumlar mavi zemin üzerinde krmızı çomaklar şeklinde görülürken, fluororokrom yönteminde (Auromine O-Rhodamine B) kullanılan filtre sistemine göre sarı-portakal rengi fluoresans verilirler (Koneman ve ark 1997, Kıyan ve ark 1999).

M.bovis klinik örneklerden ve doku materyalinden direkt olarak hazırlanan preparatlarda mikroskobik olarak görülebilir. *M.bovis* aside dirençli olduğundan klasik ZN yöntemi ile boyanır, fakat fluoresan asit-fast boyama da kullanılabilir. Mavi zemin üzerinde kırmızı renkte basil (methylene blue boyama) ve eğer malaşit yeşili ile tekrar boyanırsa yeşil zeminde görülürler. Preparatta pozitif olan vakalar için lezyonun haematoxylin-eosin (HE) ile boyanmış kesitinin muayenesi önemlidir (Ayele ve ark 2004).

1.8.2. Histopatolojik Muayene

Klinik örneklerde aside dirençli etkenlerin tespiti için mikroskopi, basit, ucuz ve hızlı bir yöntemdir. Deri üzerinde gelişen lezyonlardan alınan biyopsi veya nekropside organlarda saptanan lezyonlardan alınan parçalardan hazırlanan preperatların, HE ve ZN ile boyanmasıyla kesin teşhise gidilebilir. Pozitif olanlarda ZN boyamalarda mavi zemin üzerinde kırmızı pembe asido- rezistan bakterilerin görülmesi teşhis için yeterlidir (OIE 2008). Bu tekniz ucuz, pratik ve diğer laboratuvar imkânlarının mevcut olmadığı gelişmekte olan ülkelerde faydalı bir başlangıç teşhis adımıdır; üstelik klinik ve patolojik örneklerde identifikasyon yapılabilir. *M.bovis* kültürde izole edilmesine rağmen, histolojik kesitlerde saptanmayabilir (Ayele ve ark 2004, OIE 2004).

1.8.3. Kültür

Tüm mikobakterium türleri aside dirençli olduğundan, klinik örneklerde aside dirençli basillerin saptanması basilin tipi ve canlılığı konusunda bilgi vermemektedir. Kültür yöntemleri geç sonuç vermesine rağmen, tür düzeyinde identifikasyon işlemleri için gerekli izolatların elde edilebilmesine, bakterilerin canlılıklarının doğrudan gösterilebilmesine, çoğaltılan izolatların daha sonraki araştırmacılar için saklanabilmesine ve epidemiyolojik verilerin elde edilebilmesine imkân sağlamaları açısından, Tb tanısında halen altın standart olarak kabul edilebilmektedir. Mikobakteriumların üretimi için kullanılan besi yerleri, içerik yönünden (sentetik, yarısentetik, kompleks), görünüm yönünden (katı, sıvı, yarı katı), kullanım amacına göre (primer, araştırma, üretme) ve içerdikleri antimikrobiyal madde içeriğine (selektif, non-selektif) göre sınıflandırılır (Baykal 2008).

Mikobakteriumlar ilk kez izole edilecekleri zaman en sık kullanılan besi yeri Löwenstein-Jensen (LJ) besi yeridir. LJ besi yeri diğer besiyerlerine göre mikobakteriumların büyümesinde daha az inhibitör etkiye sahiptir. Petragrani besi yeri özellikle kontaminant bakteri yükü fazla olan materyallerin ekiminde tercih edilir. Middlebrook 7H10 ve sıvı besi yerleri selektiviteleri LJ besiyerinden daha yüksek olan besiyerleri olup, bu besiyerlerinde mikobakteriumların büyümesinin saptanması daha kısa sürede olmaktadır (Koneman 2006).

Selektif besiyerleri antibiyotik ve antifungaller içerdikleri için kontaminasyonu büyük oranda baskılarlar. Primer izolasyon amacıyla katı besi yerlerine ilave olarak sıvı ya da katı besiyeri kullanılacaksa, katı besiyerlerinden birinin selektif olması tercih edilmelidir (Ersöz 2006).

M.bovis, LJ besiyerinde 3-6 haftada üreme göstermekte, üreme, besiyerlerinin makroskopik muayenesi ve ZN boyama ile belirlenmektedir. Karakteristik üreme süreci ve koloni morfolojisi *M.bovis* için ön tanı sağlamaktadır ve *M.bovis* katı besyerlerinde beyaz renkte, kuru kabarık, kenarları düzensiz, granüllü, rough tipte koloniler oluşturmaktadır (OIE 2008a, Sayın 2010).

1.8.4. Moleküler Yöntemler

Moleküler yöntemler oldukça hızlı olmaları ve tanımlama aralıklarının genişliği nedeniyle mikobakterium enfeksiyonlarının tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Moleküler yöntemler, klinik örneklerde mikobakterium varlığının saptanması, saptanan mikobakteriumların tiplendirilmesi ve antimikrobiyal ilaçlara karşı direncini belirleyebildiği gibi epidemiyolojik araştırmalar ile de mikobakterium enfeksiyonlarının kaynağının ortaya çıkarılması için de kullanılabilir (Eroğlu 2003).

Moleküler yöntemler *M.tuberculosis'*in tanısını güvenilir hale getirmek ve tiplendirmesini kolaylaştırmak için uygulanmakla birlikte son zamanlarda bu metodlar *M.bovis*'e yönelmiştir. Klinik örneklerde PZR inhibitörlerinin varlığı ile birlikte, mikobakteriyel hücre duvarının intrasellüler doğası ve geçirgen olmayan yapısı, PZR ile tespiti sınırlar. Bu durum az sayıda basilin yaygın olduğu, Tb'lu

sığırlardan alınan örneklerde ve bazı klinik örneklerde, etkenin PZR ile saptanmasında potansiyel kullanımlarını etkiler (OIE 2004). Amplifikasyonu baz alan PZR saptama kitleri mevcut olmasına rağmen, sığırlarda *M.bovis'*in saptanmasının 'in house' amplifikasyonu baz alan sistemlerde odaklanıldığı görülmektedir. Çalışmalarda farklı primerler kullanılmıştır. Bunlar 16S-23S rRNA'dan elde edilen sekanslar, insersiyon sekansları IS6110 ve IS1081, MPD70 ve 38kDa antijen gibi MTC'e spesifik proteinleri şifreleyen genleri çoğaltan primerlerdir (Hughes 2003).

İnsan Tb'unun epidemiyolojik çalışmalarında, insersiyon sekansı IS6110'nun multiple kopyalarda polimorfizmlerin tanımlanması, *M.tuberculosis*'in suş tiplendirmesi için alternatif bir metot olarak kabul edilir. İngiltere ve diğer ülkelerde sığırlardan elde edilen *M.bovis* izolatlarının çoğunluğunda bu insersiyon sekansın tek bir kopyasının varlığı veteriner alanda bu tekniğin uygulanmasını sınırlandırmıştır (Haddad ve ark 2004). *M. bovis*'i MTC'deki diğer üyelerden ayırmak için kullanılan DNA analiz teknikleri biyokimyasal yöntemlerden daha hızlı ve güvenilirdir, oxyR genindeki 285 nükleotid pozisyonundaki bir mutasyonun bugüne kadar incelenen MTC izolatlarının tümünde *M.bovis* için spesifik olduğu bulunmuştur (OIE 2009).

1.8.5. Hayvan Deneyi

Kobay veya tavşan gibi deney hayvanlarına marazi maddenin enjeksiyonu yapılmaktadır. Kobayların inguinal lenf düğümleri yakınına marazi maddelerden 0,5 mg bakteri/ml hazırlanan inokulum 0,2-0,3 ml. enjekte edilmesinin ardından 6-8 hafta sonra hayvanlara nekropsi yapılarak iliak ve subiliak lenf düğümlerinden bakteriyoskopi ve kültür yapılır (Koneman 2006, Yardımcı 2006).

1.8.6. Hücresel Bağışıklığın Ölçülmesi

PPD Tüberkülin Deri Testi

PPD Tüberkülin deri testi, Tb enfeksiyonu sonucu oluşan geç ve hücresel tipteki aşırı duyarlılığı belirlemek için kullanılan bir testtir. Tüberküloz enfeksiyonu, mikobakteriyel antijenlere karşı konakçıda duyarlılık oluşumu ile sonuçlanır.

Enfeksiyon sonucu ilk duyarlılaşma bölgesel lenf düğümlerinde gelişip kan dolaşımına giren duyarlı T-lenfositleri ile 6–9 hafta içinde oluşur. Bu lenfositlerin, deri içine tüberkülin enjeksiyonu ile tekrar uyarılması sonucu, aşırı duyarlılık reaksiyonu gelişir (Vordermeler 1995, Diker 1998). PPD'nin deri içi enjeksiyonunu takiben antijen derideki dendritik hücreler (Langerhans hücreleri) tarafından alınarak bölgesel lenf düğümüne taşınırlar. Lenf düğümlerindeki ve dolaşımdaki duyarlı Th 1 hücreleri antijeni tanır, aktive olur ve enfeksiyon bölgesinde toplanır. Bölgeye toplanan T-lenfositleri IFN-γ, IL-2, IL-8, serotonin, lenfotaktin gibi maddeler salgılarlar. Bu sitokinler bölgeye bazofil ve makrofaj göçünü artırırlar. Tüm bu hücrelerden salınan sitokinler bölgeye daha fazla lenfosit göçüne neden olur. Meydana gelen tüm bu reaksiyonlar sonucu hücresel düzeyde yangı oluşur. Meydana gelen aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucu enjeksiyon bölgesinde kızarıklık, ısı artışı ve şişkinlik şekillenmektedir. Makrofajlar tarafından salınan serbest radikaller ve enzim doku tahribinin en önemli nedenidir (Diker 1998, Bilgehan 1999, Erganiş ve İstanbulluoğlu 1999, Sayın 2010).

Tüberkülin deri testinde antijen olarak tüberküloz basillerinin proteinleri kullanılmaktadır. Old tüberkülin, HSCM (ısı ile konsantre edilmiş sentetik besiyeri) tüberkülin ve PPD tüberkülin olmak üzere üç tipi bulunmaktadır. Ancak günümüzde PPD tüberkülin kullanılmaktadır (Gemicioğlu 1999).

Tüm PPD preparatları için standart tüberkülin PPD lot numarası 49608 veya PPD-S'dir. Tüm tüberkülin preparatlarının gücü "tüberkülin ünitesi" (TÜ) olarak ifade edilmiş ve 1 TÜ=0.00002 mg PPD-S bulunmaktadır (Oğuz 2004). Sığırlarda tüberküloz teşhisinde kullanılan PPD, *M.bovis* AN5 suşundan, insanlarda *M.tuberculosis*'den hazırlanmaktadır (OIE2008b). Sığırlarda deri için uygulanan Mamalian ve Avian PPD'nin dozu 2000 İU'den daha az olmamalıdır (Resmi Gazete 2009).

Tüberkülin testi boynun yan orta kısmından (*cervical fold skin test)* ve kuyruk kökünden *(caudal fold skin test)* deri içi uygulanabilmektedir. Ancak günümüzde kuyruk kökünden uygulama Amerika dışında kullanılmamaktadır (Rua-Domenech ve ark 2006).

Avian ve Bovine PPD'nin uygulandığı karşılaştırmalı tüberkülin test ile hayvanların *M.bo*vis ile enfeksiyonu ya da *M.avium, M.avium subsp. paratüberkülozis* ve çevresel mikobakteriumlar ile duyarlı hale getirildiğinin ayırımı yapılabilmektedir (Rua-Domenech ve ark 2006).

Bovine tüberkülin deri içine enjekte edildiğinde *M.bovis* ya da çapraz reaksiyon veren antijenler (*Nocardia, Rhodococcus, Corynebacterium*, çevresel mikobakteriumlar ile enfeksiyon, *M.avium subsp.paratuberculosis* ile enfeksiyon, *M.bovis* BCG ile aşılama) ile daha önceden duyarlı hale getirilmiş ise enjeksiyondan sonraki 48-72. saatte şişkinlik, kızarıklık, ağrı gibi yangı belirtileri ortaya çıkmaktadır. (Rua-Domenech ve ark 2006, Sayın 2010). Bu gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonunun meydana gelebilmesi için reaksiyonu veren T hücrelerinin PPD reaksiyonundan haftalar önce (6-9 hafta) duyarlı hale gelmiş olması gerekmektedir (Pollock ve ark 2003, Rua-Domenech ve ark 2006).

Lenfosit Proliferasyon Testi

Lenfosit proliferasyon testi, Tb enfekte hayvanların teşhisinde sensivite ve spesifitesi yüksek olan bir testtir. Bu in-vitro hücresel bağışıklık ölçüm testinde, PPD Bovine ve PPD Avian antijenlerine lenfositlerin reaksiyonu karşılaştırılmakta ve test tam kanda veya purifiye lenfositler ile gerçekleştirilmektedir. Test bilimsel değere sahip olmasına rağmen; uzun inkubasyon periyodu, radyoaktf nükleotidlerin kullanılmasına gerek duyulması, pahalı olması, laboratuvarlar arası standardize edilememesi gibi dezavantajlarından dolayı rutin teşhiste kullanılmamaktadır. Lenfosit transformasyon testleri ve ELISA'yı içeren kan testinin *M.bov*is enfeksiyonunun teşhisinde duyarlı olduğu bildirilmiştir (OIE 2008 a).

Gama İnterferon (IFN-γ) Testi

Tb'da başarı oranını artırmak için, tam kan sığır ve kanatlı tüberkülinleri ile kültür edildiğinde, sitokinin salınımını saptamak ve ölçmek için IFN-γ testi geliştirilmiştir. IFN-γ testi, sığır Tb'unun teşhisi amacıyla 1980 yılında Avusturalya'da geliştirilen, hücresel bağışıklıklığın ölçüldüğü in vitro, kan temelli bir testtir (Wood ve Rothel 1994). Sığırların deneysel enfeksiyonlarında; *M. bovis* ile

enfekte edilen sığırlar, 14. günde IFN-γ testi ile teşhis edilebilmektedir ve tüberkülin testinden daha erken enfeksiyonu saptamaktadır. IFN-γ testi, 2002 yılında OIE tarafından PPD deri testi uygulanan sürülerde paralel test olarak kabul edilmiştir (OIE 2008b). Test pek çok ülkede PPD deri testi uygulanan tüberküloz prevalansının düşük olduğu sürülerde, PPD negatif hayvanların tekrar edilmesinde kullanılmaktadır (Buddle ve ark 2001).

IFN-γ araştırmasına dayanan testlerin tüberküline kıyasla bazı avantajları vardır. Avusturalya'da 1997 yılında yapılan ilk saha çalışmasında tüberkülozun teşhisi için tek intradermal tüberkülin testinden (%65,6), IFN-γ testinin %93,6 oranla daha duyarlı olduğu, daha yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu ispatlanmıştır (Çelik ve ark 2007). Bununla birlikte, tanımlanan mikobakteriyel antijenlerin kullanılması spesifiteyi artırmada ümit vericidir. Testte duyarlılığı artırmak amacıyla antijen olarak PPD yerine *M.bovis, M.tuberculosis ve M.africanum* için spesifik antijen olan ESAT-6 (6 kDa eraly secratory antigenic target) ve CFP-10 (10 Kda culture filtrate protein) kullanılabilmektedir. Bu antijenler *M.bovis, M.tuberculosis ve M.africanum* enfeksiyonlarında T lenfositlerden IFN-γ salınımına neden olmaktadır (Rua-Domenech ve ark 2006).

Sığırlar gibi dokunulması zor ve tehlikeli olan hayvanlarda PPD deri testine göre avantajı hayvanların bir kereye mahsus zapt-ı rapt edilmesidir. Test in vitro yapılır ve deri testleri gibi ölçümler gerektirmediği için sonuçlar daha az kişiseldir (Çelik ve ark 2007).

1.8.7. Humoral Bağışıklığın Ölçülmesi

Tb enfeksiyonunun serolojik teşhisi amacıyla komplement fikzasyon testi (CFT), pasif hemaglütinasyon, jel presipitasyon, immunelektroforez ve immunfloresan gibi yöntemler kullanılmış ancak sensitivite ve spesifite açısından yetersizlikle karşılaşılmıştır. ELISA hücresel immüniteyi baz alan testler için alternatiften ziyade bir tamamlayıcı test olarak uygulanabilmektedir (Daniel ve ark 1987). Mikobakteriumlar ile enfekte canlılarda antikor cevap, bakteriyel yükün ve patolojik değişikliklerin arttığı enfeksiyonun geç döneminde artmakta, enfeksiyonun seyri sırasında farklı dönemlerde mikobakteriumlardan çok sayıda antijen açığa

çıkmakta, ancak aynı antijenlere karşı gelişen humoral cevap, vakalar arasında benzerlik göstermemektedir (Guptave Ram 2000, Özerol 2003).

Mikobakterium enfeksiyonlarının serolojik testi basit ve ucuz olmakla birlikte, düşük sensivite ve spesifiteleri nedeni ile deri testine ve IFN-γ testine alternatif olamamaktadır. Ancak, alerjik sığırların teşhisi serolojik testler ile mümkün olabilmektedir (Yearsley ve ark 1998).

Serolojik teşhis metodlarının, işletmelerin bir kez ziyaret edilmesi, kan örneklerinin pek çok hastalığın teşhisi için toplanabilecek olması ve serum örneklerinin dondurularak uzun süre saklanabilmesi, hayvanlara herhangi bir antijen enjekte edilmediği için immun sistemin etkilenmemesi ve testin tekrar tekrar uygulanabilmesi, ucuz ve basit olması gibi avantajları bulunmaktadır (Lilenbaum ve ark 1999).

1.9. Korunma ve Kontrol

M.tuberculosis ve *M.bovis* enfeksiyonlarından korunmak amacı ile aşı olarak *M.bovis BCG* geliştirilmiştir (Meyer ve ark 2002). İnsan ve hayvanlarda uygulanan BCG aşısı, tüberküloz enfeksiyonunun teşhisinde kullanılan PPD deri testine karşı canlıyı duyarlı hale getirmektedir (Vordermeir ve ark 2002, Mustafa ve ark 2006).

Sığırlar ve kobaylar için virülent olmayan, kimyasal mutasyon ile attenüe edilmiş *M.bovis* suşu hayvanlarda hücresel bağışıklığı yeterince uyarabilmiş ve BCG aşılamasında koruma sağlamayan challenge denemelerinde koruma sağlayabilmiştir. Ancak suşun zararsızlığı yönündeki çalışmalar yeterli olmadığı için henüz kullanılmamaktadır (Vordermeier ve ark 2006, Hope ve ark 2008). BCG aşısı insanlarda doğumdan sonraki 2-3. ayda 0,01 mg dozunda deri içi uygulanmakta, 5-15 yıl süre ile %50-60 oranında tüberküloz enfeksiyonuna karşı koruma sağlamaktadır. Aşı etkenin bulaşmasını, özellikle de akciğer tüberkülozunu önleyememekte enfeksiyonun daha ılımlı ve sınırlı seyretmesini sağlamaktadır. Özellikle çocuklarda tüberküloz menenjitinin önlenmesi yönü ile oldukça önemlidir. Aşının bağışıklık oluşturması 6-12 hafta alabilmektedir. Aşı PPD deri testi negatif sonuç veren bireylere uygulanmaktadır (Colditz ve ark.1994). BCG, immün yetmezlik bulunan

insanlarda enfeksiyona yol açabilmektedir (Niemann ve ark 2000). BCG aşılamasında kullanılan dozun, şekillenen bağışıklığın tipini belirlemede oldukça önemli bir faktör olduğu belirlenmiştir. Düşük doz aşılama Th1 yardımcı T-lenfositlerin rol aldığı hücresel bağışıklığı uyarırken, humoral bağışıklığı çok düşük düzeyde uyarabilmektedir. Yüksek doz aşılamada Th1 ve Th2 hücrelerin rol aldığı ancak Th2 hücrelerin daha baskın olduğu, hücresel bağışıklık ile birlikte düşük doz aşılamaya göre daha yüksek oranda humoral bağışıklığın şekillendiği ortaya konmuştur (Gebreyohannes 2007, Willem ve ark 2007).

Bu çalışmada, çeşitli illerden (Kastamonu, Samsun, Çorum) PPD tüberkülin testi pozitif saptanan ve şartlı kesime tabi tutulmuş 100 adet ineğin kesimden sonra başta akciğer, karaciğer, meme olmak üzere kalp, dalak ve böbrek alınarak enfeksiyonun doku ve organlarda meydana getirdiği patolojik değişikliklerin ortaya konulması amaçlanmıştır. Ayrıca; kesimden önce alınmış olan süt örneklerinde tüberküloz etkenlerinin varlığının araştırılması ve hastalık etkeninin pastörize edilmeden veya iyi kaynatılmadan kullanılabilecek çiğ sütle insan ve hayvan sağlığı için var olan risklerin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Gereç

Bu çalışmada materyal olarak, PPD tüberkülin testi pozitif olan ve şartlı kesime tabi tutulmuş 100 adet ineğin akciğer, karaciğer, meme, dalak, böbrek, kalp, ve süt örnekleri kullanıldı.

Çalışma materyalleri, Şubat-Ekim 2011 tarihleri arasında çeşitli illerde (Samsun, Çorum, Kastamonu) PPD tüberkülin testi pozitif saptanan ve şartlı kesime tabi tutulmuş ineklerin kesimlerinin yapıldığı Amasya ili Suluova Pan-Et Mezbahası'ndan temin edildi.

Araştırma projesi, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu (SUVEK)'nun 30.10.2008 tarih ve 2008/074 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Çalışmada PPD tüberkülin pozitif olarak belirlenen, yaşları 3–10 arasında değişen, farklı ırklardan (Holstein, Simental, Jersey, Montofon, Yerli Kara) toplam 100 adet ineğin kesimden önce süt numuneleri 5 ml steril tüplere alındı ve süt örneği alınan hayvanların kulak küpe numaraları kaydedilerek kesim sonrası akciğer, karaciğer, meme, dalak, böbrek ve kalp makroskobik olarak incelendi. Doku ve organların makroskobik incelemeleri yapılarak, saptanan lezyonlar kaydedildi ve gerekli görülen olgulardan fotoğraflar çekildi. Doku ve organlardan alınan örnekler %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Kesimden önce steril tüplere alınan süt örnekleri ise, termos yardımıyla soğuk zincirle laboratuvara getirilerek analizler yapılıncaya kadar -20 ^{0}C'de muhafaza edildi.

2.2. Yöntem

2.2.1. Histopatolojik İncelemeler

Mezbahada kesimi yapılan ineklerden alınan doku (akciğer, karaciğer, meme, dalak, böbrek, kalp) örnekleri patolojik incelemeler için %10'luk tamponlu formalinde tespit edidi ve rutin laboratuvar metotları ile hazırlanan parafin

bloklardan mikrotomda (Reichert-Jung 2030) 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak tümü HE ile ardından Tb etkeninin tespiti için de ZN yöntemi ile boyamaları yapılarak (Luna 1968) binoküler başlıklı ışık mikroskobunda (Olympus BX51, Tokyo, Japan) incelendi. Gerekli görülen olgulardan mikroskobik fotoğraflar çekildi (Olympus DP12, Tokyo, Japan).

HE ve ZN ile boyalı kesitlerin histopatolojik incelemelerinde gözlenen değişiklikler skorlanarak değerlendirildi. Skorlamalar şu şekilde yapıldı:

Kazeifikasyon Nekrozu ve Kalsifikasyon

+++: Şiddetli (10'luk objektifte görüntü alanının 3/4 ve daha fazlası)

++ : Orta (10'luk objektifte görüntü alanının 1/2'si)

+ : Hafif (10'luk objektifte görüntü alanının 1/4'ü)

- : Yok

Langhans Tipi Dev Hücresi

+++ : Yoğun (10'luk objektifte görüntü alanında 7 adet ve daha fazlası)

++ : Orta (10'luk objektifte görüntü alanında 4-6 adet)

+ : Hafif (10'luk objektifte görüntü alanında 1-3 adet)

- : Yok

Safra Kanalı Proliferasyonu :

+++ : Şiddetli (10'luk objektifte görüntü alanının 3/4'ünde)

++ : Orta (10'luk objektifte görüntü alanının 1/2'ünde)

+ : Hafif (10'luk objektifte görüntü alanının 1/4'ünde)

- : Yok

Fibröz Kapsül :

+ : Var

- : Yok

Bronş ve bronşiyole açılım :

+ : Var

- : Yok

Konglomere tüberkül :

+ : Var

- : Yok

ZN boyamada Tb etkenin varlığı :

+ : Var

- : Yok

2.2.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Süt örnekleri dekontaminasyon ve nötralizasyondan sonra 2 ml steril ependorf tüplerine alınarak 1,2 ml lizis solüsyonu (100mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 25mM EDTA, %2 Twen 20,5 mg/ml Proteinase K, pH=8) eklendi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 50 °C'de 4-6 saat süre ile termal blokta (VWR 460-3208, USA) inkübe edildi. Süre sonunda 200 µl SDS (Sodium dodesil sülfat) (%10 w/v) eklenerek 65 °C'de 1 saat inkübe edildi. 100 µl 5 M NaCl eklenerek 15 dakika daha inkübasyona devam edildi. Süre sonunda 100 °C'de 1 saat inkübasyon yapıldı. Tüplere 1ml. Fenol:Kloroform:İzoamil alkol (25:224:1), (Sigma P2069, Germany) eklenerek 30 sn karıştırıldı, 13.000 g'de 15 dakika santrifüj edilerek üst faz yeni bir tüpe aktarıldı. Fenol: Kloroform: İzoamil alkol basamağı tekrarlanarak 750 µl Etil Alkol (%96) ve son konsantrasyon 1/10 olacak şekilde Sodium Asetat (Merc K36523968,Germany) eklenerek 3 saat -20°C inkübe edildi. Tüpler 13.000 g'de +4 ° C'de 5 saat santrifüj edilerek, DNA peleti %70 soğuk Etil Alkol ile yıkandı. DNA kurutularak 100 µl Tris-EDTA (Etilen damin tetra asetik asit) sulandırıldı (Wilsher ve ark 1998, Çataloluk ve ark 2003).

Ekstraksiyonu yapılan DNA örneklerinin saflık ve miktar tayinlerini hesaplamak için 260 nm ve 280 nm dalga boylarında optik dansiteleri (OD) spektrofotometre (Eppendorf, Model 6131) kullanılarak saptandı. Distile su blank olarak kullanıldı. 50 µl DNA örneği distile su ile 100 µl'ye tamamlandı. 260 nm (OD260) ve 280 nm (OD280) dalga boylarında ölçümleri yapıldı. DNA örneklerinin konsantrasyonları ng/ml cinsinden elde edildi. DNA örneklerine öncelikli olarak M. tuberculosis kompleks yönünden PZR analizleri yapıldı.

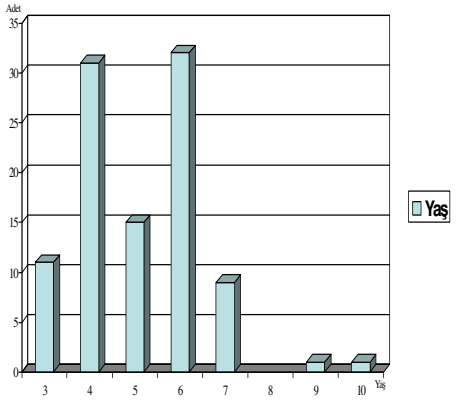
Bu amaçla *M. tuberculosis* kompleks türlerinde gyrB gen bölgesi, 1020 bp (baz pair) fargmenti kodlayan; MTUB_c-gyrBf-5'-TCG GAC GCG TAT GCG ATA TC–3' ve MTUB_c-gyrBr-5'-ACA TAC AGT TCG GAC TTG CG–3 primerleri ile PZR uygulandı (Chimara ve ark 2004, Kasai ve ark 2000).

Amplifikasyon, 50 µl PZR tamponunda gerçekleştirildi. PZR tamponu; 5 µl PCR buffer (KCl'lü), 3 µl MgCl2 (25 mM), 1 µl dNTP set (10 mM), 1 µl (1 µM) her bir primer, 0,25 µl (1,25 U) Taq DNA polimeraz, 33,75 µl steril ultra saf su ve 5 µl hedef DNA içerdi. Hedef DNA, PZR-termal cycler cihazında (Ependorf, Matercycler gradient 5331 000.010, Germany) 95 ºC'de 10 dakika ön denatürasyon, 35 siklus 94 ºC'de 1 dak, 65 ºC 1 dak, 72 ºC 1 dak ve 72 ºC 10 dak son zincir uzaması ile çoğaltıldı. 5 µl DNA, 1 µl loading dye solüsyonu ile boyanadı, 5 µg/ml etidyum bromid içeren %1,5 agaroz jele yüklenerek elektroforez işlemine tabi tutuldu. Marker olarak 1000 bp DNA ladder kullanıldı. Pozitif kontrol olarak M. tuberculosis H 37 Rv, negatif kontrol olarak *M. avium* ATCC 25291 referans suşlarının DNA ekstraksiyonları kullanıldı.

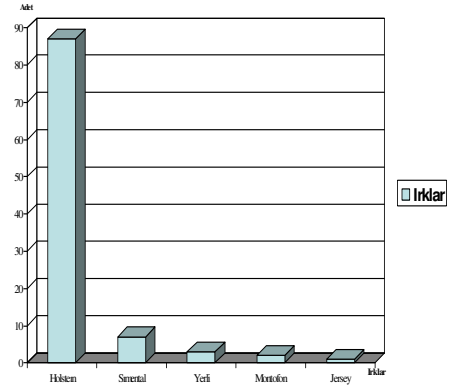
3. BULGULAR

Çalışmada Amasya ili Suluova Pan-Et Mezbahasında daha önceden PPD testi yapılmış ve PPD testi pozitif olan ve kesime sevkedilen; farklı ırklara ait 100 baş ineğin yaşlarının 3 ila10 arasında değiştiği, kesime sevkedilen bu hayvanların çoğunun 6 yaş (32 baş) ve 4 yaş (31 baş) olduğu, bunları 5 yaş (15 baş), 3 yaş (11 baş), 7 yaş (9 baş), 9 yaş (1 baş) ve 10 yaşlı (1 baş) hayvanların izlediği gözlenmiştir (Şekil 3.1).

Çalışmada incelenen 100 ineğin büyük bir çoğunluğunun Holstein ırkından olduğu (87 baş), daha az olarak da Simental (7 baş), Yerli Irk (3 baş), Montofon (2 baş) ve Jersey (1 baş) olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.1 Olguların Yaşlara Göre Dağılımı



Şekil 3.2 Olguların Irklara Göre Dağılımı

Amasya ili Suluova Pan-Et Mezbahasına getirilen, önceden PPD tüberkülin testi yapılmış ve PPD testi pozitif olan 100 baş ineğin kesimden sonra postmortem muayenesi sonucu 88'inde, farklı organlarda makroskobik lezyonlar gözlendi. Bu olguların histopatolojik incelemeleri sonucunda ise, 75'inin Tb olduğu saptandı. Yapılan mikroskobik incelemelerde 51 hayvanın akciğerinde, 61 hayvanın karaciğerinde, 37 hayvanın ise hem akciğer hem de karaciğerinde Tb'la ilgili histopatolojik bulgular gözlendi. PPD testi pozitif olmasına rağmen 100 hayvandan 25'inde incelenen organların hiçbirisinde Tb'la ilgili mikroskobik bir değişikliğe rastlanmadı (Çizelge 3.1). Ayrıca, makroskobik olarak lezyon saptanan 88 hayvanın 13'ünde Tb'la ilgili mikroskobik bulgular gözlenmedi.

Çizelge 3.1.Tüm olguların Irk, Yaş ve Organlarda Tb Lezyonları ve PZR ile Sütte Tb etkeni varlığı.

Olgu No	Irk	Yaş	Akciğer		Karaciğer		Meme		Dalak		Kalp		Böbrek		Süt PZR-Tb
			Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	
1	Simental	5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Simental	4	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Holstein	7	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Holstein	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Holstein	4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Montofon	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Holstein	4	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	Holstein	4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Holstein	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Holstein	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Simental	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Montofon	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Simental	5	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Simental	5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Holstein	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Holstein	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Holstein	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Holstein	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Holstein	6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	Holstein	6	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Holstein	4	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Holstein	5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	Holstein	7	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	Holstein	5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	Holstein	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	Holstein	6	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	Holstein	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Holstein	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	Holstein	5	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Holstein	6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	Holstein	4	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Holstein	4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	Yerli	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	Holstein	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	Holstein	4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	Holstein	6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Holstein	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	Holstein	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	Holstein	4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	Holstein	4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	Holstein	7	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	Holstein	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	Holstein	6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	Holstein	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Holstein	6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	Holstein	7	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3.1. (Devam) Tüm olguların Irk, Yaş ve Organlarda Tb Lezyonları ve PZR ile Sütte Tb etkeni varlığı.

Olgu No	Irk	Yaş	Akciğer		Karaciğer		Meme		Dalak		Kalp		Böbrek		Süt PZR-Tb
			Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	
47	Holstein	6	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
48	Holstein	4	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	Holstein	6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	Holstein	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	Holstein	7	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	Holstein	6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	Holstein	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	Yerli	9	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	Holstein	6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	Holstein	7	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	Holstein	5	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	Jersey	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	Yerli	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	Holstein	5	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	Holstein	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	Holstein	4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	Holstein	6	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	Simental	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	Holstein	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	Holstein	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	Holstein	6	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
68	Holstein	6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
69	Holstein	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70	Holstein	6	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	Holstein M.	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	Holstein	6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73	Sımental	10	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	Holstein	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75	Holstein M.	6	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	Holstein M.	5	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	Holstein	6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
78	Holstein	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	Holstein	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	Holstein	6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81	Holstein	4	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
82	Holstein	6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
83	Holstein	4	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	Holstein	6	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	Holstein	6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86	Holstein	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87	Holstein	6	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
88	Holstein	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
89	Holstein	4	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90	Holstein	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
91	Holstein	6	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
92	Holstein	6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3.1. (Devam) Tüm olguların Irk, Yaş ve Organlarda Tb Lezyonları ve PZR ile Sütte Tb etkeni varlığı.

Olgu No	Irk	Yaş	Akciğer		Karaciğer		Meme		Dalak		Kalp		Böbrek		Süt PZR-Tb
			Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	Tb	ZN	
93	Holstein	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
94	Holstein	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
95	Holstein	5	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	Holstein	7	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
97	Holstein	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
98	Holstein	5	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
99	Holstein	7	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	Holstein	3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3.1. Makroskobik ve Mikroskobik Bulgular

3.1.1. Akciğer

Makroskobik olarak incelenen ineklerden 51'inde (%51) akciğerde Tb lezyonlarına rastlandı. Lezyonların 32'si (%62,7) diffuz, 10'u (%19,6) fokal, 4'ü (%7,8) multifokal yerleşimli olup, 5 olayda (%9,8) ise, birbirleri ile birleşen ve daha geniş kazeifiye alanlar içeren konglomere granülomlar dikkati çekti. Makroskobik olarak; bazı akciğerlerin çok şişkin ve soluk pembe renkte olduğu, granülomların ise, beyaz sarımsı renkte ve kesit yüzlerinde sarımsı renkte kolaylıkla parçalanabilen bir yapıda olduğu, bazılarının ise, zor kesildiği ve kesit yapılırken çıtırtılı kesildiği dikkati çekti (Resim 3.1.1.1). Bu granülomların büyüklüklerinin 4-6 mm ila 25-30 mm arasında değiştiği gözlendi. Makroskobik olarak incelenen lezyonların 12 adedinin (%23,5) 25-30 mm, 9 adedinin (%17,6) 4-6 mm, 4 adedinin (%7,8) 6-10 mm, 3 adedinin (%5,9) 15-25 mm büyüklüğünde olduğu görüldü. Ayrıca lezyonların 19 adedinin (%37,3) 4-6 mm ile 6-10 mm, 4 adedinin (%7,8) 10-15 mm ile 15-25 mm boyutlarında olduğu tespit edildi (Çizelge 3.1.1).

Mikroskobik incelemelerde granülomların ortasında kazeifikasyon nekrozu ve bazı olgularda da bu nekrozla birlikte kalsifikasyon gözlenirken, çevrelerinde histiyositler, lenfositler, plazma hücreleri, epiteloid hücreler ve Langhans dev hücrelerinden oluşan hücresel bir kuşakla çevrili idi. En dışta bağ doku hücrelerinden oluşan fibröz bir kapsül bu hücresel infiltrasyonu kuşatmıştı (Resim 3.1.1.2). Akciğerde 51 olgunun 19'unda (% 37,2) +++, 21'inde (%41,7) ++, 11'inde (%21,5) + düzeyinde kazeifikasyon nekrozu tespit edilirken, olguların 13'ünde (%25,5) ++, 23'ünde (%45) + düzeyinde kalsifikasyon tespit edilmiş ve 15'inde (%29,4) kalsifikasyona rastlanamamıştır. Olguların 13 'ünde (%25,4) nodüllerin fibröz bağ doku ile sarıldığı, 14'ünde (%27,4) +++, 13'ünde (%25,4) ++ ve 24'ünde + (%47) yoğunlukta Langhans tipi dev hücresi tespit edilmiştir. Olguların 11'inde (%21,5) ise birbirleri ile birleşen ve daha fazla kazeifiye alanlar içeren konglomere tüberkül yapısı dikkati çekti (Resim 3.1.1.3). Tüberküllerin bronş ve bronşiollere açıldığı 29 olayda (%56,8) ise, epitel tabakasının kısmen veya tamamen nekroza uğradığı ve lümenlerinin nötrofil lökositler ile dejenere ve nekrotik hücreler tarafından doldurulmuş olduğu tespit edildi. Bu olgularda da tüberküllerdeki nekrozun

çevresinde Langhans tipi dev hücreleri ve yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu gözlendi (Resim 3.1.1.4). Bir olguda ise, merkezde herhangi bir nekroz ve kalsifikasyon bulunmayan, Langhans tipi dev hücreleri, mononükleer hücreler ve epiteloid hücrelerden oluşan ve çevresinde belirgin bir kapsülü bulunan epiteloid granülom tespit edildi (Resim 3.1.1.5). Histopatolojik incelemelerde akciğerde tüberküllerin tespit edildiği 51 olgunun 41'inde ZN ile yapılan boyamalarda; kazeifikasyon nekrozu çevresinde, Langhans dev hücre sitoplazması (Resim 3.1.1.6) ve daha az olarak da epiteloid hücre sitoplazmalarında küçük kırmızı renkli çubuklar şeklinde tüberküloz etkenleri görülmesine rağmen 10 olguda tüberküllerde etkenlere rastlanamadı (Çizelge 3.1.2).

Çalışmada incelenen akciğerlerde tüberkülozla ilgili lezyonlardan ayrı olarak; 64 olguda intersitisyel pnömoni saptanmış olup, bunlardan 38'i tüberkülozla birlikteydi. Bunun dışında 11 olguda amfizem, 7 olguda ödem, 4 olguda kist hidatik, 1 olguda plöritis, 1 olguda ise kataral bronkopnömoni saptandı (Çizelge 3.1.2).

3.1.2. Karaciğer

Karaciğerde 61 olayda (%61) Tb lezyonu tespit edildi. Karaciğerdeki Tb lezyonlarına daha çok subkapsüler rastlanırken bazı olgularda kesit yüzünde de lezyonlar dikkati çekti. Büyük nodüllerin kesit yüzeyinin incelendiğinde ortalarındaki boz sarı renkli, peynirleşmiş bir kitlenin kalın bir kapsül ile çevrildikleri, grimsi-beyaz renkteki küçük nodüllerde ise nekrotik yapıların belirgin olmadığı dikkati çekti (Resim 3.1.2.1) (Çizelge 3.1.1). Lezyonların 34'ü (%55,7) diffuz, 19 adedi (%31,1) fokal, 2'si (%3,3) ise multifokal dağılım göstermekte olup, 6 olayda (% 9,8) ise konglomere yapılar saptandı. Makroskobik olarak incelenen lezyonların 16 adedinin (%26,2) 25-30 mm, 9 adedinin (%14,8) 15-25 mm, 5 adedinin (%8,1) 6-10 mm, 4 adedinin (%6,6) 4-6 mm boyutlarında olduğu gözlemlendi. Ayrıca lezyonların 25 adedinin (%41) 4-6 mm ile 6-10 mm, 2 adedinin (%3,3) 10-15mm ile 15-25 mm büyüklüğünde olduğu tespit edildi.

Karaciğerde 61 olgunun 26'sında (% 42,6) +++, 28 inde (%45,9) ++, 7'sinde (%11,4) + düzeyinde kazeifikasyon nekrozu gözlenirken, olguların 3'ünde (%4,9) +++, 23'ünde (%37,7) ++, 31'inde (%50,8) + yoğunlukta kalsifikasyon tespit

edilmiş, 4'ünde (%6,5) ise kalsifikasyona rastlanılmamıştır. Tüberkül saptanan olguların 21'inde (%34,4) +++, 28'inde (%45,9) ++ ve 12'sinde + (%19,6) yoğunlukta Langhans tipi dev hücresi tespit edilirken, 61 olgunun 14'ünde (%22,9) nodüllerin çevresinde fibröz bağ doku saptandı (Resim 3.1.2.2). Konglomere tüberkül yapılarına ise olguların 17'sinde (%27,8) rastlandı. Bunlardan bazıları makroskobik olarak (6 olgu), bazıları da mikroskobik incelemelerde belirlendi (Resim 3.1.2.3). Tüberkül saptanan karaciğerlerden 29'unda (%47,5) bu tüberküllerin safra kanalına açıldığı dikkati çekti. Bu olgularda tüberküllerin safra kanalına açıldığı alanlarda safra kanalı epitellerinde dejenerasyon, nekroz ve dökülmeler ile safra kanalı lümeninde dilatasyon ve nekrotik kalıntılar gözlendi (Resim 3.1.2.4, 3.1.2.5). Karaciğerde tüberküloz lezyonlarının yanısıra; safra kanalı proliferasyonları da gözlenmiş olup, bunlardan 24'ü (%39,3) +++, 25'i (%40,9) ++, 12'si (%19,6) + düzeyindeydi (Resim 3.1.2.6). Karaciğerde tüberküllerin görüldüğü 61 olgunun 48'inde ZN ile yapılan boyamalarda nekrozların çevresinde (Resim 3.1.2.7), makrofaj ve Langhans tipi dev hücrelerinin sitoplazmlarında (Resim 3.1.2.8) küçük kırmızı renkli çubuklar şeklinde tüberküloz etkenleri görüldü (Çizelge 3.1.3).

Tüberküloz lezyonları dışında; karaciğerde 4 olguda fasiolazis, 1 olguda kist hidatik ve 16 olguda portal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu ve 2 olguda portal alanda bağ doku artışına rastlandı (Çizelge 3.1.3).

3.1.3. Meme

Kesim sonrası yapılan makroskobik incelemelerde 32 inekte memede tüberkülozdan şüphelenilmesine rağmen yapılan mikroskobik incelemelerde tüberküloza ilişkin herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır. Bu olgularda memelerin; oldukça sert kıvamda, bazılarının grimsi-beyaz renkte fibröz bir kapsülle çevrili, bazılarının ise kapsülsüz yapıda nodüller içerdiği ve kesit yüzlerinin sarımsı bazen sarımsı-yeşil renkte nekrotik ve irinli içeriğe sahip olduğu dikkati çekti. Gözlenen bu lezyonların 16'sı (%50) multifokal, 8'i (%25) fokal, 8'i (%25) diffuz dağılım göstermekte idi. Bu yapıların 8 adedinin (%25) 25-30 mm, 16 adedinin (%50) 10-15mm ile 15-25 mm., 8 adedinin (%25) 6-10 mm ile 10-15 mm boyutlarında olduğu tespit edildi (Çizelge 3.1.1).

Makroskobik olarak Tb lezyonlarına benzeyen bu olguların (32 olgu) mikroskobik incelemelerinde; loblarda geniş ve alveol gruplarını da içine alan nekrotik alanlar dikkati çekti. Ayrıca alveol epitellerinde dejenerasyon, lümenlerinde dökülmüş epitel ve nötrofil lökositler gözlendi. Süt kanalları ve alveollerde yoğun nötröfil granülositler, nekrotik yapılar ve bu olguların bazılarında kalın bir fibröz kapsülle çevrili apseler dikkati çekti (Resim 3.1.3.1). Alveol ve süt kanalarının ise nötrofil lökositler, salgı birikimi ve tek tük nekrotik hücreler ile dolu olduğu gözlendi. Tb granulomlarındaki kazeifikasyon nekrozlarına benzemesine rağmen, ayrıntılı mikroskobik incelemelerde bu yapıların tüberküllere benzemediği dikkti çekmiş olup, nekrotik yapıların çevresinde ZN ile yapılan boyamada da Tb etkenlerine rastlanmadığından dolayı gözlenen bu yapıların tüberkülozla ilgili olmadığı kanısına varıldı. Bu değerlendirmeler sonucunda bu olgular kronik irinli apseli mastitis (KİAM) olarak değerlendirildi (Resim 3.1.3.2). Bu olguların bazılarında ise (15 olguda) nekrotik kitle ve apselerin süt kanallarına açıldığı görüldü (Çizelge 3.1.4).

Yapılan mikroskobik incelemelerde; 25 adet olguda alveol ve süt kanallarının, epitel hücrelerinde dejenerasyon, deskuamasyon, lümenlerinde nötrofil lökosit ve salgı birikimi ile bazılarında korpus amilaseumlar da görüldü. Bu olgular akut kartaral mastitis ve galaktoforitis (AKMG) olarak değerlendirildi (Çizelge 3.1.4).

Histopatolojik incelemeler sonucu, 17 olguda ise; interstisyumda bağ doku artışı ve mononükleer hücre infiltrasyonu dikkati çekti. Süt kanallarında düzensizlik, salgı birikimi ve dilatasyon ile çok sayıda nötrofil granülositler gözlendi. Alveol epitellerinin vakuollü bir görünümde olduğu ve lümenlerinde çok fazla nötrofil granülositlerin görüldüğü bu olgular kronik kataral mastitis ve galaktoforitis (KKMG) olarak adlandırıldı (Çizelge 3.1.4).

Kesime sevkedilen ineklerden alınan tüm meme dokularının mikroskobik incelemeleri sonucunda 26 olguda herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır (Çizelge 3.1.4).

3.1.4. Diğer Organlar

Dalakta, makroskobik incelemelerde 2 olguda kapsüla üzerinde fokal dağılım gösteren 6-10 mm ve 10-15 mm büyüklüğünde ve kesit yüzü sarımsı boz renkte olan düğümcükler dikkati çekti (Resim 3.1.4.1). Ayrıca bazı olgularda ise; dalağın büyüdüğü ve koyu kırmızı renkte olduğu görüldü (Çizelge 3.1.1).

Mikroskobik olarak iki olguda da epiteloid granulomlara rastlandı. Bu olgularda dalak kapsülasının aşırı derecede kalınlaştığı ve bu alanlardaki granulomlarda yoğun epiteloid hücrelerle Langhans tipi dev hücreleri dikkati çekti (Resim 3.1.4.2, 3.1.4.3). Her iki olguda da ZN ile yapılan boyamalarda tüberküloz etkenlerine rastlanamadı. Bunun yanı sıra 2 olguda lenfoid dokuda artış, 20 olguda kapsülanın kalınlaştığı dikkati çekmesine rağmen, bunların dışında herhangi bir değişiklik gözlenemedi. Dalakta 64 olguda ise granüler yapıda kahverengi hemosiderin pigmenti, 5 olguda da yoğun kalsifikasyon gözlendi (Çizelge 3.1.5).

Böbreklerde makroskobik incelemelerde tüberkülozla ilgili herhangi bir lezyona rastlanmadı (Çizelge 3.1.1). Mikroskobik incelemelerde 50 olguda fokal mononükleer hücre infiltrasyonu, 20 olguda mineralizasyon, 2 olguda kapsülada kalınlaşma ve kistik yapılar gözlendi. Ayrıca 3 olguda interstisumda lenfo-histiositer infiltrasyonun daha belirgin olduğu ve tubuluslarda düzensiz genişlemelerin bulunduğu fokal irinsiz intersitisyel nefritis dikkati çekti (Çizelge 3.1.5).

Kalpte makroskobik incelemelerde tüberküloz lezyonlarına ait herhangi bir bulguya rastlanmadı (Çizelge 3.1.1). Mikroskobik incelemelerde 40 olguda sarkosporoidler, 8 olguda fokal mononükleer hücre infiltrasyonu, iki olguda hiyalin dejenerasyonu, 4 olguda epikartta kalınlaşma, 1 olguda ise mineralizasyon dikkati çekti (Çizelge 3.1.5).

Çalışmada kesime sevkedilen ineklerin organlarındaki değişiklikler incelenmiş fakat hem organlardaki lezyonların kaydedilmesi hem de bu organlardan doku örneklerinin alınması işlemleri nedeniyle tüm vücut lenf düğümleri ile organlara ait lenf düğümlerinde inceleme yapılamamıştır.

Genel olarak, incelenen PPD pozitif 100 hayvandan 75'inde (%75) Tb tespit edilmiş, Tb tespit edilen bu 75 hayvanın 60'ında (%80) ise ZN boyamalarda Tb etkeni görülmüştür.

3.2. Süt Örneklerinde PZR

Kesimden önce 100 inekten alınan süt örneklerinin PZR yöntemine göre incelemeleri sonucunda süt örneklerine ait DNA'larda 1020 bp büyüklüğünde PZR ürünleri gözlenmedi (Resim 3.2.1) (Çizelge 3.1.4).

Çizelge 3.1.1. Organlarda Tb'a ait makroskobik değişiklikler.

Olgu No	Irk	Yaş	Akciğer	Karaciğer	Meme	Dalak	Kalp	Böbrek
1	Simental	5	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
2	Simental	4	-	F, 25-30 mm	-	-	-	-
3	Holstein	7	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-	-
4	Holstein	3	-	-	-	-	-	-
5	Holstein	4	D, 4-6 mm	-	-	-	-	-
6	Montofon	3	-	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
7	Holstein	4	-	F, 25-30 mm	-	-	-	-
8	Holstein	4	F, 25-30 mm	-	-	-	-	-
9	Holstein	4	-	-	-	-	-	-
10	Holstein	3	D, 6-10 mm	-	-	-	-	-
11	Simental	5	-	-	-	-	-	-
12	Montofon	5	-	-		-	-	-
13	Simental	5	-	D, 4-6 mm		-	-	-
14	Simental	5	D, 4-6 mm	-	-	-	-	-
15	Holstein	6	-	-	-	-	-	-
16	Holstein	6	-	-	-	-	-	-
17	Holstein	4	F, 25-30 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
18	Holstein	6	-	-	-	-	-	-
19	Holstein	6	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	F, 25-30 mm	-	-	-	-
20	Holstein	6	MF, 10-15 mm ve 15-25 mm	-	-	-	-	-
21	Holstein	4	MF, 10-15 mm ve 15-25 mm	F, 25-30 mm	-	-	-	-
22	Holstein	5	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-	-
23	Holstein	7	K, 25-30 mm	MF, 10-15 mm ve 15-25 mm	-	-	-	-
24	Holstein	5	MF, 10-15 mm ve 15-25 mm	-	-	-	-	-
25	Holstein	4	F, 25-30 mm	F, 25-30 mm	-	-	-	-
26	Holstein	6	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-	-
27	Holstein	3	-	-	-	-	-	-
28	Holstein	6	-	-	-	-	-	-
29	Holstein	5	F, 15-25 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-

Çizelge 3.1.1. (Devam) Organlarda Tb'a ait makroskobik değişiklikler.

Olgu No	Irk	Yaş	Akciğer	Karaciğer	Meme	Dalak	Kalp	Böbrek
30	Holstein	6	K, 25-30 mm	F, 25-30 mm	-	-	-	-
31	Holstein	4	-	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
32	Holstein	4	D, 4-6 mm	-	-	-	-	-
33	Yerli	4	-	-	-	-	-	-
34	Holstein	5	-	-	-	-	-	-
35	Holstein	4	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-	-
36	Holstein	6	F, 25-30 mm	K, 25-30 mm	-	-	-	-
37	Holstein	6	-	-	-	-	-	-
38	Holstein	7	-	-	-	-	-	-
39	Holstein	4	F, 25-30 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
40	Holstein	4	D, 4-6 mm	-	-	-	-	-
41	Holstein	7	D, 4-6 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
42	Holstein	4	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	K, 15-25 mm	-	-	-	-
43	Holstein	6	K, 15-25 mm	F, 15-25 mm	-	-	-	-
44	Holstein	4	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	D, 6-10 mm	-	-	-	-
45	Holstein	6	-	F, 15-25 mm	-	-	-	-
46	Holstein	7	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	K, 25-30 mm	-	-	-	-
47	Holstein	6	K, 25-30 mm	F, 25-30 mm	-	F, 10-15 mm	-	-
48	Holstein	4	-	K, 25-30 mm		-	-	-
49	Holstein	6	D, 4-6 mm	K, 25-30 mm	-	-	-	-
50	Holstein	4	K, 25-30 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
51	Holstein	7	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
52	Holstein	6	-	K, 25-30 mm	-	-	-	-
53	Holstein	4	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	F,15-25 mm		-	-	-
54	Yerli	9		D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
55	Holstein	6	F, 25-30 mm	F,15-25 mm	-	-	-	-
56	Holstein	7		D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-

Çizelge 3.1.1. (Devam) Organlarda Tb'a ait makroskobik değişiklikler.

Olgu No	Irk	Yaş	Akciğer	Karaciğer	Meme	Dalak	Kalp	Böbrek
57	Holstein	5	F, 25-30 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
58	Jersey	4	MF, 10-15 mm ve 15-25 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
59	Yerli	4	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	F, 25-30 mm	-	-	-	-
60	Holstein	5	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
61	Holstein	3	-	-	-	-	-	-
62	Holstein	4	F, 25-30 mm	-	-	-	-	-
63	Holstein	6	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	D, 6-10 mm	-	-	-	-
64	Simental	3	-	-	-	-		-
65	Holstein	4	F,15-25 mm	F, 25-30 mm	-	-	-	-
66	Holstein	3	-	-	-	-	-	-
67	Holstein	6	D, 6-10 mm	F,15-25 mm	-	F, 6-10 mm	-	-
68	Holstein	6	-	F,15-25 mm	-	-	-	-
69	Holstein	3	-	-	-	-	-	-
70	Holstein	6	-	D, 4-6 mm		-	-	-
71	Holstein M.	4	-	-	-	-	-	-
72	Holstein	6	-	D, 6-10 mm	-	-	-	-
73	Sımental	10	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
74	Holstein	4	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	D, 6-10 mm	-	-	-	-
75	Holstein M.	6	-	D, 4-6 mm	-	-	-	-
76	Holstein M.	5	D, 4-6 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
77	Holstein	6	-	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
78	Holstein	4	-	-	-	-	-	-
79	Holstein	3	-	-	-	-	-	-
80	Holstein	6	-	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
81	Holstein	4	-	F,15-25 mm	-	-	-	-
82	Holstein	6	-	F,15-25 mm	-	-	-	-
83	Holstein	4	-	MF, 10-15 mm ve 15-25 mm	-	-	-	-

Çizelge 3.1.1. (Devam) Organlarda Tb'a ait makroskobik değişiklikler.

Olgu No	Irk	Yaş	Akciğer	Karaciğer	Meme	Dalak	Kalp	Böbrek
84	Holstein	6	D, 4-6 mm	D, 4-6 mm	-	-	-	-
85	Holstein	6	-	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
86	Holstein	5	-	-	-	-	-	-
87	Holstein	6	D, 4-6 mm	-	-	-	-	-
88	Holstein	4	-	-	-	-	-	-
89	Holstein	4	D, 6-10 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
90	Holstein	6	-	-	-	-	-	-
91	Holstein	6	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
92	Holstein	6	-	D, 6-10 mm	-	-	-	-
93	Holstein	6	-	-	-	-	-	-
94	Holstein	4	-	-	-	-	-	-
95	Holstein	5	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
96	Holstein	7	-	F, 25-30 mm	-	-	-	-
97	Holstein	3	-	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
98	Holstein	5	D, 6-10 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
99	Holstein	7	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	D, 4-6 mm ve 6-10 mm	-	-	-	-
100	Holstein	3	-	F, 25-30 mm	-	-	-	-

Lezyonların organlardaki dağılımı:
D: Diffuz, F: Fokal, MF: Multifokal, K: Konglomere,

Organlardaki lezyonların boyutları:
4-6 mm, 6-10 mm, 10-15 mm, 15-25 mm, 25-30 mm

Çizelge 3.1.2. Akciğerde gözlenen histopatolojik değişiklikler.

Olgu No	Kazeifikasyon Nekrozu	Kalsifikasyon	Langhans Tipi Dev Hücresi	Fibröz Kapsül	Bronş ve Bronşiyole Açılım	Konglomere Tüberkül	ZN	Diğer Lezyon
1	++	+	+	-	+	-	+	İP, Amf
2	-	-	-	-	-	-	-	İP
3	++	+	+	-	-	-	+	İP
4	-	-	-	-	-	-	-	İP
5	+	-	+	-	-	-	+	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	İP
8	+++	++	+++	-	+	-	+	İP, Amf
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	+	+	-	-	-	-	İP
11	-	-	-	-	-	-	-	İP
12	-	-	-	-	-	-	-	İP
13	-	-	-	-	-	-	-	-
14	+	-	+	-	-	-	+	İP
15	-	-	-	-	-	-	-	İP, Öd, KB
16	-	-	-	-	-	-	-	İP
17	+++	++	+++	+	+	-	+	İP
18	-	-	-	-	-	-	-	Öd
19	++	+	+	-	-	-	+	İP
20	+++	+	++	+	+	+	+	Öd ve Plr
21	+++	+	++	+	-	-	-	Amf
22	++	+	+	-	-	-	+	-
23	+++	+	++	-	+	+	+	İP
24	+++	+	++	-	-	+	+	İP
25	+++	++	+++	+	+	-	+	İP
26	++	+	+	-	-	-	+	-
27	-	-	-	-	-	-	-	İP
28	-	-	-	-	-	-	-	İP
29	+++	++	+	+	+	-	+	İP
30	+++	++	+++	+	+	+	+	İP
31	-	-	-	-	-	-	-	İP
32	++	-	+	-	-	-	+	İP
33	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-
35	++	-	+	-	-	-	-	Amf
36	+++	++	+++	-	+	-	+	İP
37	-	-	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-
39	+++	++	+++	+	+	-	+	İP, Öd
40	++	-	+	-	-	-	-	İP, Öd

Çizelge 3.1.2. (Devam) Akciğerde gözlenen histopatolojik değişiklikler.

Olgu No	Kazeifikasyon Nekrozu	Kalsifikasyon	Langhans Tipi Dev Hücresi	Fibröz Kapsül	Bronş ve Bronşiyole Açılım	Konglomere Tüberkül	ZN	Diğer Lezyon
41	+	-	+	-	-	-	-	Amf
42	++	-	++	-	+	+	+	Amf
43	+++	++	+++	+	+	+	+	İP
44	++	-	++	-	+	+	+	İP
45	-	-	-	-	-	-	-	İP
46	++	+	++	-	+	-	+	İP
47	+++	++	+++	+	+	+	+	İP
48	-	-	-	-	-	-	-	İP
49	+	-	+	-	-	-	+	-
50	+++	++	+++	+	+	-	+	İP
51	++	+	++	-	+	-	+	İP , Amf, Kh
52	-	-	-	-	-	-	-	İP
53	++	+	++	-	+	-	+	İP
54	-	-	-	-	-	-	-	İP , Amf,
55	+++	++	+++	-	+	+	+	Öd
56	-	-	-	-	-	-	-	İP
57	+++	++	+++	-	+	-	+	İP
58	+++	+	+++	+	+	+	+	İP
59	++	+	++	-	+	-	+	İP
60	++	+	++	-	+	-	+	İP
61	-	-	-	-	-	-	-	Amf
62	+++	++	+++	-	+	-	+	Öd, İP
63	++	+	++	+	+	-	-	Kh
64	-	-	-	-	-	-	-	-
65	+++	+	+++	+	+	+	+	İP
66	-	-	-	-	-	-	-	İP
67	+	-	+	-	-	-	+	-
68	-	-	-	-	-	-	-	İP
69	-	-	-	-	-	-	-	-
70	-	-	-	-	-	-	-	İP
71	-	-	-	-	-	-	-	-
72	-	-	-	-	-	-	-	İP
73	++	+	+	-	-	-	+	İP
74	++	+	+	-	-	-	+	İP
75	-	-	-	-	-	-	-	-
76	+	-	+	-	-	-	-	İP
77	-	-	-	-	-	-	-	İP
78	-	-	-	-	-	-	-	Öd
79	-	-	-	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-	-	-	İP, Kh

Çizelge 3.1.2. (Devam) Akciğerde gözlenen histopatolojik değişiklikler.

Olgu No	Kazeifikasyon Nekrozu	Kalsifikasyon	Langhans Tipi Dev Hücresi	Fibröz Kapsül	Bronş ve Bronşiyole Açılım	Konglomere Tüberkül	ZN	Diğer Lezyon
81	-	-	-	-	-	-	-	İP
82	-	-	-	-	-	-	-	-
83	-	-	-	-	-	-	-	İP
84	+	-	+	-	-	-	+	İP
85	-	-	-	-	-	-	-	-
86	-	-	-	-	-	-	-	-
87	+	-	+	-	-	-	+	İP
88	-	-	-	-	-	-	-	-
89	+	-	+	-	+	-	+	Amf
90	-	-	-	-	-	-	-	İP
91	++	+	+	-	-	-	-	İP
92	-	-	-	-	-	-	-	-
93	-	-	-	-	-	-	-	-
94	-	-	-	-	-	-	-	İP
95	++	+	++	-	+	-	-	İP
96	-	-	-	-	-	-	-	İP
97	-	-	-	-	-	-	-	-
98	+	-	+	-	-	-	-	Amf
99	++	+	+	-	-	-	+	İP, Kh
100	-	-	-	-	-	-	-	İP

Amf : Amfizem
İP : İntersitisyel pnömoni
KB : Kataral Bronkopnömoni
Kh : Kist hidatik
Öd : Ödem
Plr : Plöritis

Çizelge 3.1.3 Karaciğerde gözlenen histopatolojik değişiklikler.

Olgu No	Kazeifikasyon Nekrozu	Kalsifikasyon	Langhans Tipi Dev Hücresi	Fibröz Kapsül	Safra kanalına Açılım	Konglomere Tüberkül	ZN	Diğer Lezyon
1	++	+	+	-	-	-	-	Skp (+), Pmnhi
2	+++	++	+++	+	+	+	+	Skp (+++)
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-
6	++	+	+	-	-	-	-	Skp (+++)
7	+++	++	+++	+	+	+	+	Skp (+++), Pmnhi, Fsz
8	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	Pmnhi
13	+	-	+	-	-	-	+	Skp (+)
14	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-
17	++	+	++	-	-	-	+	Skp (+++)
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19	+++	++	+++	-	+	+	+	Skp (+++)
20	-	-	-	-	-	-	-	-
21	+++	+++	+++	-	-	-	+	Skp (+++)
22	-	-	-	-	-	-	-	
23	+++	+	+++	+	+	-	+	Skp (+++), Fsz
24		-	-	-	-	-	-	Pmnhi
25	+++	++	+++	-	-	-	+	Skp (++), Pmnhi
26	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-
29	++	+	++	-	-	-	+	Skp (+++)
30	+++	++	+++	-	+	+	+	Skp (+++)
31	++	+	++	-	-	-	-	Skp (++), Pmnhi
32	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	Pmnhi
34	-	-	-	-	-	-	-	Pmnhi
35	-	-	-	-	-	-	-	-
36	+++	+	+++	+	+	+	+	Skp (+++)
37	-	-	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-
39	++	+	++	-	-	-	-	Skp (+), Pmnhi
40	-	-	-	-	-	-	-	Pmnhi

Çizelge 3.1.3. (Devam) Karaciğerde gözlenen histopatolojik değişiklikler.

Olgu No	Kazeifikasyon Nekrozu	Kalsifikasyon	Langhans Tipi Dev Hücresi	Fibröz Kapsül	Safra kanalına Açılım	Konglomere Tüberkül	ZN	Diğer Lezyon
41	++	+	+++	+	+	-	+	Skp (+++)
42	++	+	+++	+	+	-	+	Skp (++) , Pmnhi
43	+++	++	++	-	+	-	+	Skp (+++)
44	+	+	+	-	-	-	+	Skp (+)
45	+++	++	++	-	+	-	+	Skp (+++), Pmnhi
46	+++	++	++	-	-	+	-	Skp (++)
47	+++	+++	+++	-	+		+	Skp (++)
48	+++	++	++	+	+	+	+	Skp (+++)
49	+++	++	+++	-	+	+	+	Skp (+++)
50	++	+	++	-	-	-	+	Skp (++), Fsz
51	++	+	++	-	-	-	+	Skp (++), Pmnhi
52	+++	++	+++	-	+	+	+	Skp (+++)
53	+++	++	+++	+	+	+	+	Skp (+++)
54	++	+	++	-	-	-	-	Skp (++)
55	+++	++	++	-	+	-	+	Skp (+++)
56	++	+	++	-	-	-	+	Skp (+++)
57	++	+	++	-	-	-	+	Skp (++)
58	++	+	++	-	-	-	+	Skp (+)
59	+++	++	+++	+	+	+	+	Skp (+++)
60	++	+	++	-	-	-	+	Skp (++), Pmnhi
61	-	-	-	-	-	-	-	-
62	-	-	-	-	-	-	-	Fsz
63	+	+	++	+	-	-	-	Skp (++)
64	-	-	-	-	-	-	-	-
65	+++	++	+++	+	+	+	+	Skp (+)
66	-	-	-	-	-	-	-	Pmnhi
67	+++	++	++	-	+	-	+	Skp (++), Pbd
68	+++	++	++		+	-	+	Skp (++)
69	-	-	-	-	-	-	-	-
70	+	-	+	-	-	-	-	Skp (+)
71	-	-	-	-	-	-	-	-
72	++	+	++	-	+	-	+	Skp (++)
73	++	+	+	-	-	-	+	Skp (+++)
74	+	+	+	-	-	-	+	Skp (++)
75	+	-	+	-	-	-	-	Skp (+)
76	++	+	+	-	-	-	+	Skp (++)
77	++	++	++	-	+	+	+	Skp (++)
78	-	-	-	-	-	-	-	-
79	-	-	-	-	-	-	-	-
80	++	+	++	-	+	-	+	Skp (+), Pmnhi

Çizelge 3.1.3 (Devam) Karaciğerde gözlenen histopatolojik değişiklikler.

Olgu No	Kazeifikasyon Nekrozu	Kalsifikasyon	Langhans Tipi Dev Hücresi	Fibröz Kapsül	Safra kanalına Açılım	Konglomere Tüberkül	ZN	Diğer Lezyon
81	+++	++	+++	-	-	-	-	Skp (++)
82	+++	++	+++	+	+	+	+	Skp (+++)
83	+++	+++	+++	-	-	-	+	Skp (++), Pbd
84	+	-	+	-	-	-	-	Skp (+)
85	++	+	+	-	-	-	+	Skp (+)
86	-	-	-	-	-	-	-	-
87	-	-	-	-	-	-	-	-
88	-	-	-	-	-	-	-	Skp (+), Kh
89	++	+	++	-	+	+	+	Skp (++)
90	-	-	-	-	-	-	-	-
91	++	++	++	-	+	-	+	Skp (+)
92	++	+	++	-	-	-	+	Skp (++)
93	-	-	-	-	-	-	-	-
94	-	-	-	-	-	-	-	-
95	++	+	++	-	-	-	+	Skp (++)
96	+++	++	+++	+	+	+	+	Skp (+++)
97	++	+	+	-	-	-	-	Skp (++)
98	++	+	++	-	-	-	+	Skp (++)
99	++	+	++	-	+	-	+	Skp (++)
100	+++	++	+++	+	+	+	-	Skp (+++)

Skp : Safra kanalı prolifersyonu
Pmnhi : Portal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu
Pbd : Portal alanda bağ dokuda artışı
Kh : Kist hidadik
Fsz : Fasiolazis

Çizelge 3.1.4. Meme dokusunda gözlenen histopatolojik değişiklikler ve sütte PZR ile Tb etkeni varlığı.

Olgu No	Nekroz	Kalsifikasyon	Langhans Tipi Dev Hücresi	Fibröz Kapsül	Duktus lakt. Açılım	ZN	Süt PZR Tb Etken	Diğer Lezyon
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
3	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
8	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
10	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
12	+++	-	-	+	+	-	-	KİAM
13	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
14	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	KKM
16	-	-	-	-	-	-	-	-
17	++	-	-	+	-	-	-	KİAM
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19	+++	-	-	-	+	-	-	KİAM
20	++	-	-	+	+	-	-	KİAM
21	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
22	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
23	+++	-	-	+	+	-	-	KİAM
24	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
25	+++	-	-	-	-	-	-	KİAM
26	+++	-	-	-	+	-	-	KİAM
27	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-
29	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
30	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
31	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
32	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
33	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
35	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
36	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
37	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
38	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	KKMG

Çizelge 3.1.4. (Devam) Meme dokusunda gözlenen histopatolojik değişiklikler ve sütte PZR ile Tb etkeni varlığı.

Olgu No	Nekroz	Kalsifikasyon	Langhans Tipi Dev Hücresi	Fibröz Kapsül	Duktus lakt. Açılım	ZN	Süt PZR Etken	Diğer Lezyon
41	+++	-	-	-	+	-	-	KİAM
42	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
43	+++	-	-	+	+	-	-	KİAM
44	+++	-	-	-	+	-	-	KİAM
45	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
46	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
47	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
48	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
49	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
50	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
51	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
52	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
53	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
54	+++	-	-	+	+	-	-	KİAM
55	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
56	-	-	-	-	-	-	-	-
57	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
58	-	-	-	-	-	-	-	-
59	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
60	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
61	++	-	-	-	-	-	-	KİAM
62	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
63	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
64	-	-	-	-	-	-	-	-
65	+++	-	-	-	-	-	-	KİAM
66	-	-	-	-	-	-	-	-
67	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
68	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
69	-	-	-	-	-	-	-	-
70	-	-	-	-	+	-	-	KİAM
71	+++	-	-	+	-	-	-	KKMG
72	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
73	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
74	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
75	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
76	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
77	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
78	-	-	-	-	-	-	-	-
79	+++	-	-	+	+	-	-	KİAM
80	-	-	-	-	-	-	-	AKMG

Çizelge 3.1.4. (Devam) Meme dokusunda gözlenen histopatolojik değişiklikler ve sütte PZR ile Tb etkeni varlığı.

Olgu No	Nekroz	Kalsifikasyon	Langhans Tipi Dev Hücresi	Fibröz Kapsül	Duktus lakt. Açılım	ZN	Süt PZR Etken	Diğer Lezyon
81	-	-	-	-	-	-	-	-
82	++	-	-	-	-	-	-	KİAM
83	+++	-	-	+	+	-	-	KİAM
84	+++	-	-	+	+	-	-	KİAM
85	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
86	++	-	-	-	-	-	-	KİAM
87	+++	-	-	+	+	-	-	KİAM
88	-	-	-	-	-	-	-	-
89	-	-	-	-	-	-	-	-
90	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
91	+++	-	-	+	-	-	-	KİAM
92	-	-	-	-	-	-	-	-
93	-	-	-	-	-	-	-	-
94	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
95	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
96	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
97	-	-	-	-	-	-	-	KKMG
98	-	-	-	-	-	-	-	AKMG
99	++	-	-	-	+	-	-	KİAM
100	-	-	-	-	-	-	-	-

AKMG: Akut Kataral Mastitis ve Galaktoforitis
KKMG: Kronik Kataral Mastitis ve Galaktoforitis
KİAM: Kronik İrinli Apseli Mastitis

Çizelge 3.1.5. Diğer organlarda gözlenen histopatolojik değişiklikler.

Olgu No	Dalak			Böbrek			Kalp		
	Tbc	ZN	Diğer	Tbc	ZN	Diğer	Tbc	ZN	Diğer
1	-	-	-	-	-	M	-	-	-
2	-	-	-	-	-	M	-	-	-
3	-	-	H	-	-	-	-	-	-
4	-	-	H	-	-	-	-	-	-
5	-	-	H, Kk	-	-	Fmnhi, M	-	-	-
6	-	-	H, M	-	-	Fmnhi	-	-	-
7	-	-	H, Kk	-	-	Fmnhi, M	-	-	Src, Ek
8	-	-	Kk	-	-	Fmnhi, M	-	-	Src
9	-	-	H	-	-	-	-	-	Src
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	H	-	-	-	-	-	Src
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	H	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	Fmnhi	-	-	-
16	-	-	-	-	-	Fmnhi	-	-	Src
17	-	-	-	-	-	Fmnhi, M, FİzİN	-	-	Src , Ek
18	-	-	H, Kk	-	-	-	-	-	-
19	-	-	H	-	-	-	-	-	Src
20	-	-	H	-	-	-	-	-	Src, Ek Fmnhi
21	-	-	H, Kk	-	-	Fmnhi	-	-	Src
22	-	-	H, Kk	-	-	-	-	-	Src
23	-	-	Kk	-	-	-	-	-	Src
24	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	Fmnhi
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	H, Kk	-	-	Fmnhi, M	-	-	Fmnhi
27	-	-	-	-	-	Fmnhi, M	-	-	Src
28	-	-	H, M	-	-	Fmnhi	-	-	-
29	-	-	-	-	-	Fmnhi, Kk, Ky	-	-	Src, Ek Fmnhi
30	-	-	H	-	-	-	-	-	Fmnhi
31	-	-	H, Kk	-	-	Fmnhi	-	-	-
32	-	-	H	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	Fmnhi, M	-	-	-
35	-	-	-	-	-	M	-	-	-
36	-	-	-	-	-	Fmnhi, M	-	-	-
37	-	-	H	-	-	-	-	-	-
38	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3.1.5. (Devam) Diğer organlarda gözlenen histopatolojik değişiklikler.

Olgu No	Dalak			Böbrek			Kalp		
	Tbc	ZN	Diğer	Tbc	ZN	Diğer	Tbc	ZN	Diğer
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	Kk	-	-	FİzİN	-	-	-
41	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	Src
42	-	-	-	-	-	Fmnhi	-	-	-
43	-	-	-	-	-	Fmnhi	-	-	Src
44	-	-	Kk	-	-	Fmnhi	-	-	Src
45	-	-	H, Fmnhi	-	-	Fmnhi, M	-	-	Src
46	-	-	H,Kk	-	-	-	-	-	Hd
47	-	-	H, Kk LTDH	-	-	M	-	-	-
48	-	-	-	-	-	Fmnhi	-	-	Src, Fmnhi
49	-	-	H, M	-	-		-	-	Hd
50	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	Src
51	-	-	H, Kk	-	-	Fmnhi, M	-	-	-
52	-	-	H	-	-	-	-	-	Src
53	-	-	-	-	-	Fmnhi, M	-	-	Src
54	-	-	H, M	-	-	M	-	-	-
55	-	-	H, Kk	-	-	Fmnhi	-	-	-
56	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	-
57	-	-	-	-	-	-	-	-	Src
58	-	-	-	-	-	Fmnhi, M	-	-	Src
59	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	-
60	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	Src
61	-	-	Kk	-	-	-	-	-	-
62	-	-	Eg	-	-	Fmnhi	-	-	Src
63	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	-	-	H, Kk	-	-	Src	-	-	Fmnhi, Src
66	-	-	H	-	-	Fmnhi,M	-	-	Src
67	-	-	Eg, LTDH	-	-	Fmnhi	-	-	Src
68	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	-
69	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	-
71	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	-
72	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73	-	-	H	-	-	Fmnhi,M,Ky	-	-	-
74	-	-	-	-	-	-	-	-	Fmnhi
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	-	-	H,Kk	-	-	-	-	-	M
77	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	Src, Fmnhi
78	-	-	H	-	-	-	-	-	Src
79	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	-

Çizelge 3.1.5. (Devam) Diğer organlarda gözlenen histopatolojik değişiklikler.

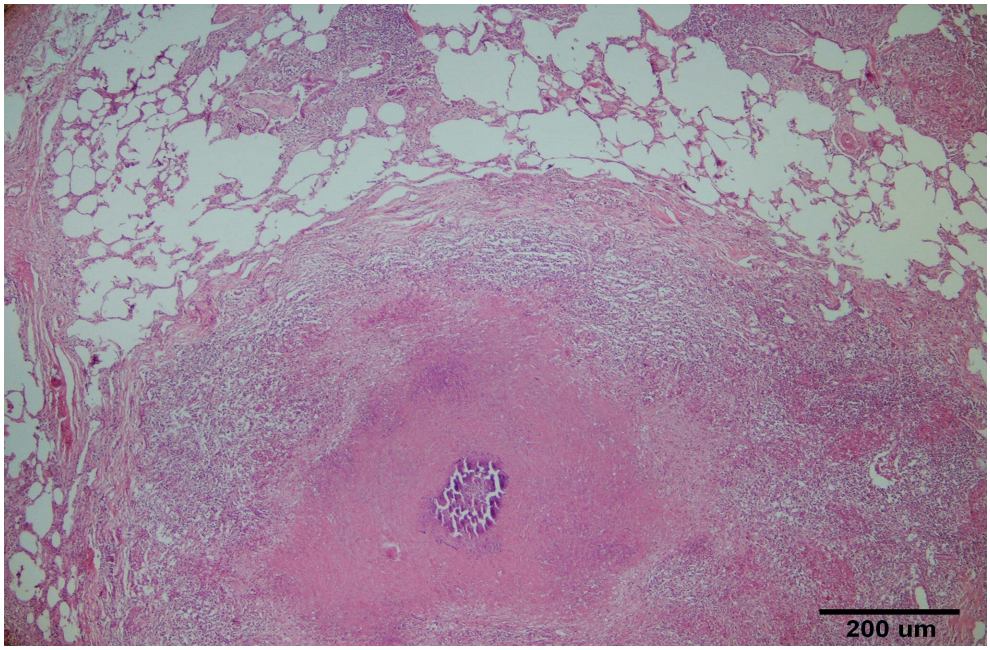
Olgu No	Dalak			Böbrek			Kalp		
	Tbc	ZN	Diğer	Tbc	ZN	Diğer	Tbc	ZN	Diğer
80	-	-	-	-	-	-	-	-	Src
81	-	-	-	-	-	M	-	-	-
82	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	Src
83	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	-	-	H	-	-	-	-	-	-
85	-	-	-	-	-	Fmnhi	-	-	Src
86	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	-
88	-	-	-	-	-	-	-	-	Src
89	-	-	H, Kk	-	-	-	-	-	-
90	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	-
91	-	-	H	-	-	Fmnhi	-	-	-
92	-	-	H	-	-	M	-	-	-
93	-	-	-	-	-	-	-	-	-
94	-	-	-	-	-	-	-	-	-
95	-	-	H	-	-	FİzİN	-	-	-
96	-	-	-	-	-	-	-	-	Src
97	-	-	H	-	-	-	-	-	-
98	-	-	H	-	-	-	-	-	-
99	-	-	-	-	-	Fmnhi	-	-	-
100	-	-	H	-	-	-	-	-	Src

FİzİN : Fokal İrinsiz İntersitisyel nefritis
Ky : Kisitik yapı
Hd : Hiyalin dejenerasyonu
Eg : Epiteloid granülom
Src : Sarcosporid
M : Mineralizasyon
Fmnhi : Fokal mononükleer hücre infitrasyonu
Kk : Kapsülada kalınlaşma
H : Hemosiderin pigmenti
LTDH : Langhans Tipi Dev Hücresi
Ek : Epikardda kalınlaşma
Bda : Bağ doku artışı

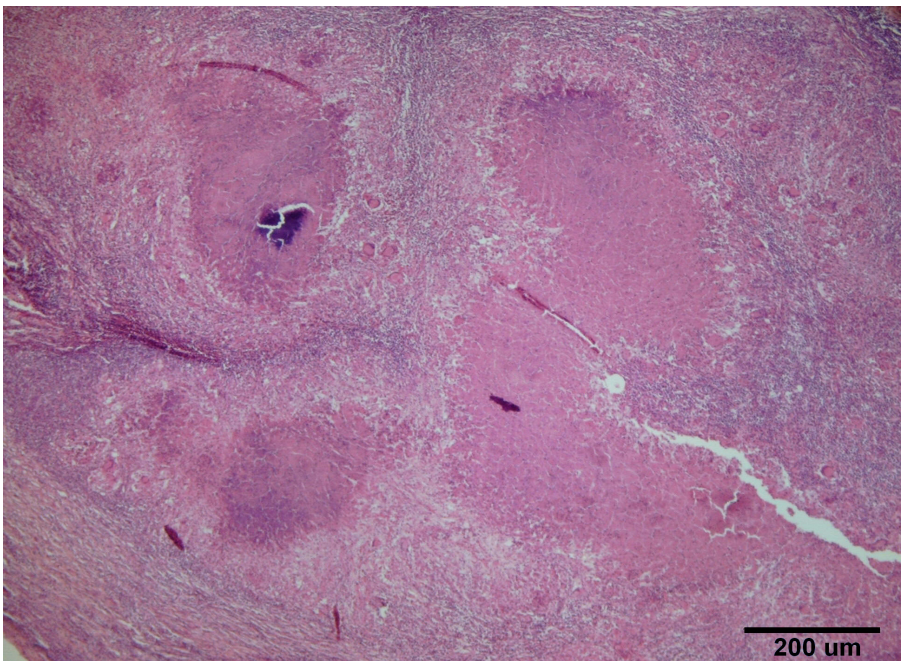
RESİMLER



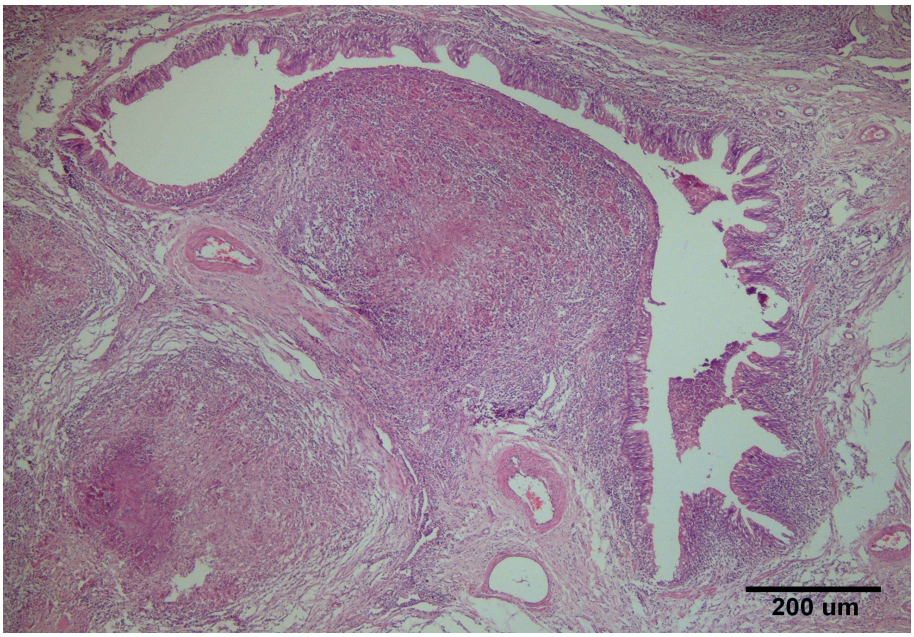
Resim 3.1.1.1. Akciğerde sarımsı beyaz renkte granülomlar



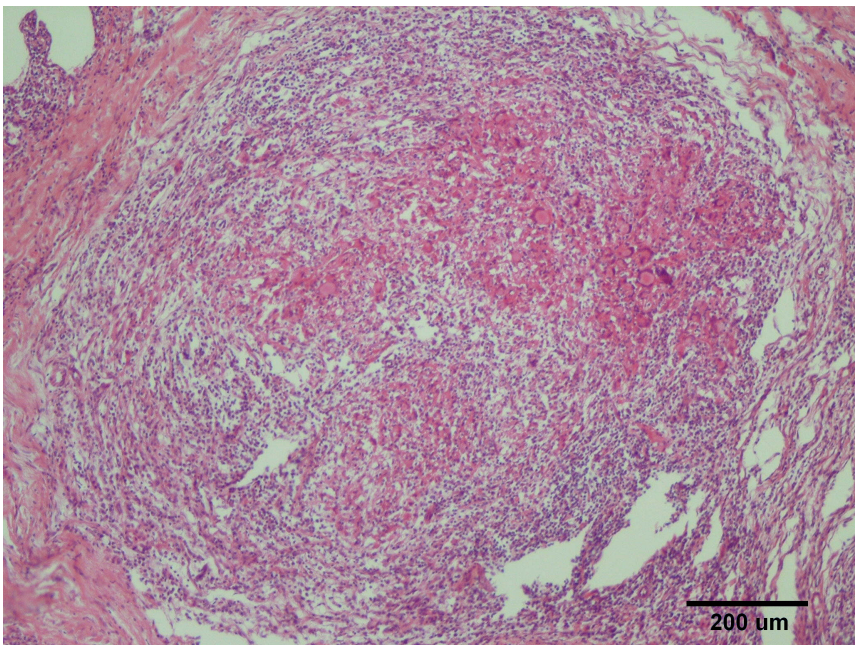
Resim 3.1.1.2. Akciğer. Ortasında kazeifikasyon nekrozu, kalsifikasyon, çevrelerinde hücresel bir kuşakla birlikte fibröz bir kapsül bulunan tüberkül, H.E.



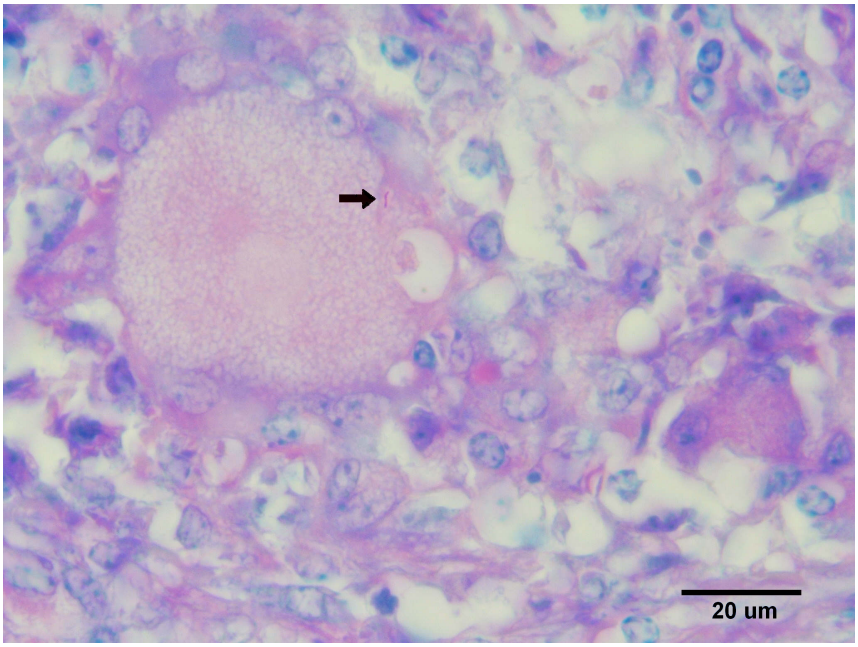
Resim 3.1.1.3. Akciğer. Birbirleri ile birleşen ve daha fazla kazeifiye alanlar içeren konglomere tüberkül , H.E.



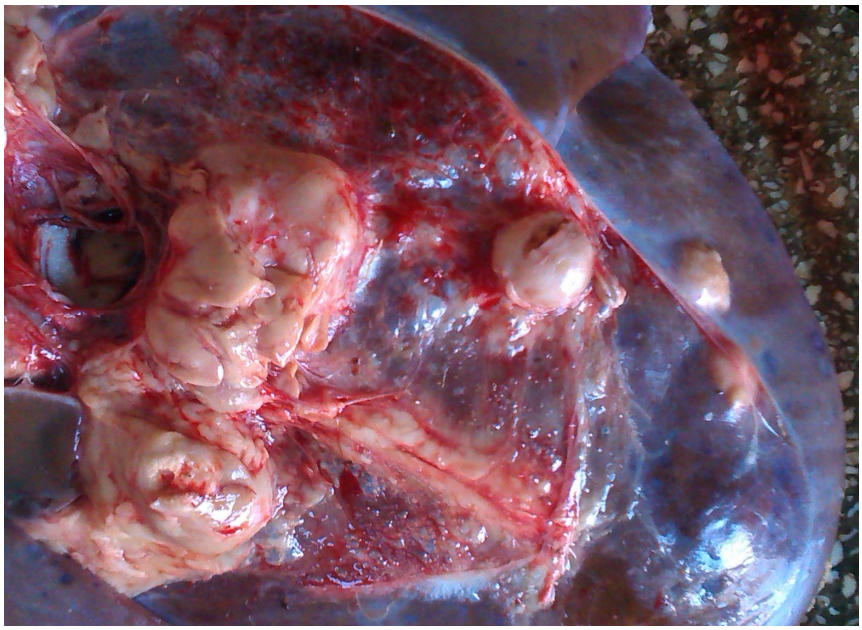
Resim 3.1.1.4. Akciğer. Bronşiole açılan tüberkül. Bronşiolün epitel tabakasında nekroz ve lümeninde nötrofil lökositler ile dejenere ve nekrotik hücreler. H.E.



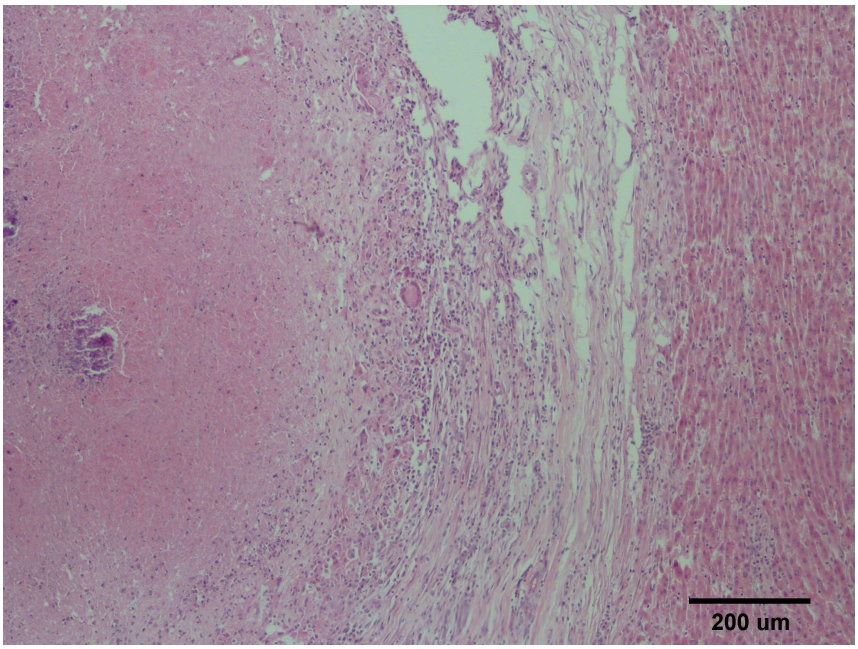
Resim 3.1.1.5. Akciğer. Epiteloid granülom. Nekroz ve kalsifikasyon bulunmayan, Langhans tipi dev hücreleri, mononükleer hücreler ve epiteloid hücreler ile çevresinde fibröz kapsülle sarılı granülom . H.E.



Resim 3.1.1.6. Akciğer. Langhans dev hücre stoplazmasında küçük, kırmızı renkli çubuk şeklinde tüberküloz etkeni (ok). ZN

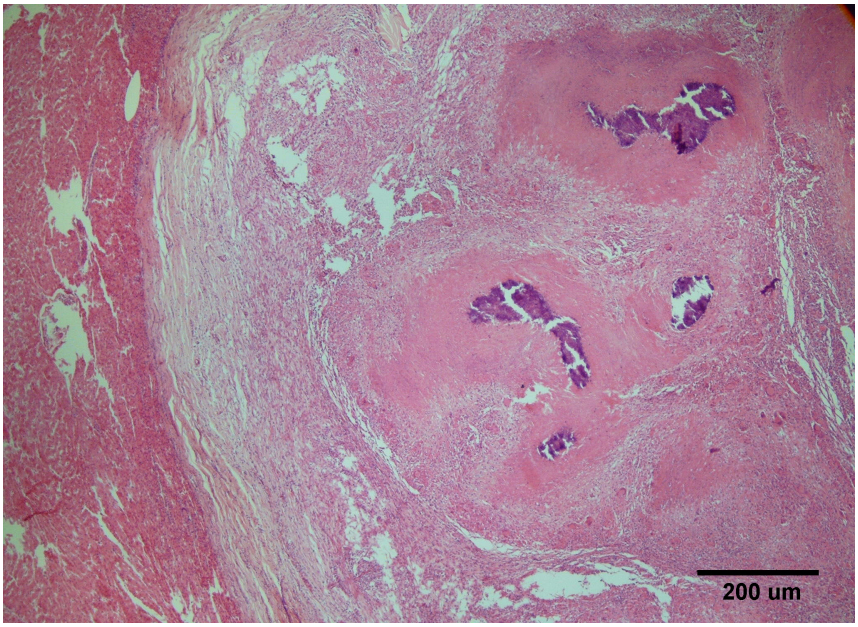


Resim 3.1.2.1. Karaciğer. Sarımsı beyaz renkte kapsüladan taşkın granülomlar.

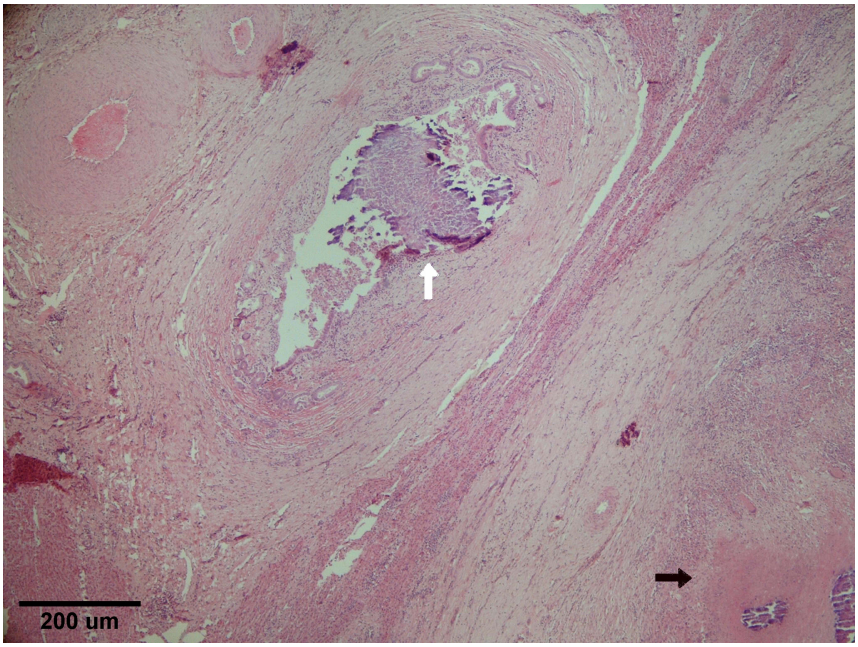


Resim 3.1.2.2. Karaciğer. Fibröz bir kapsülle kuşatılan ve ortasında kazeifikasyon nekrozu, kalsifikasyon bulunan, çevrelerinde hücresel bir kuşakla çevrili tüberkül,H.E

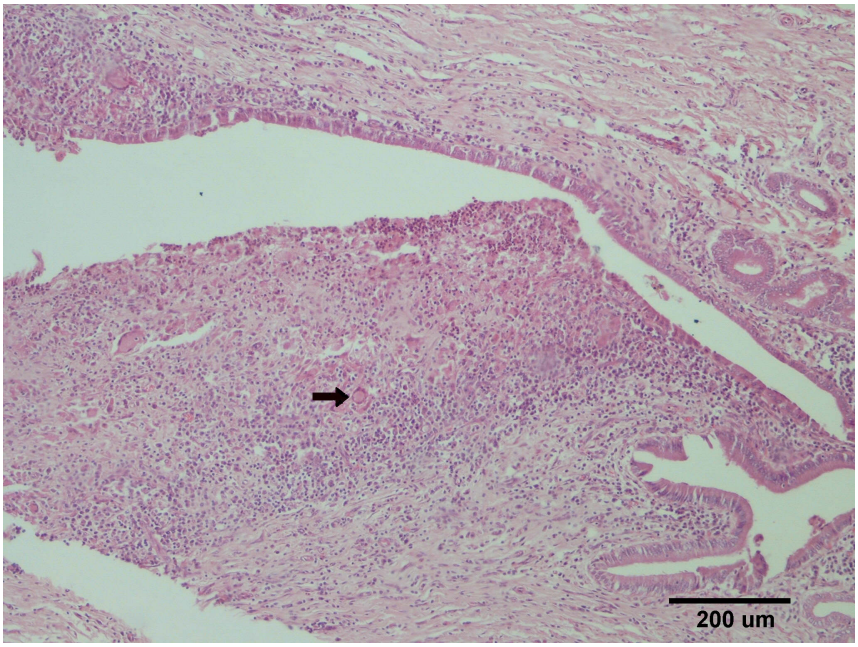
.



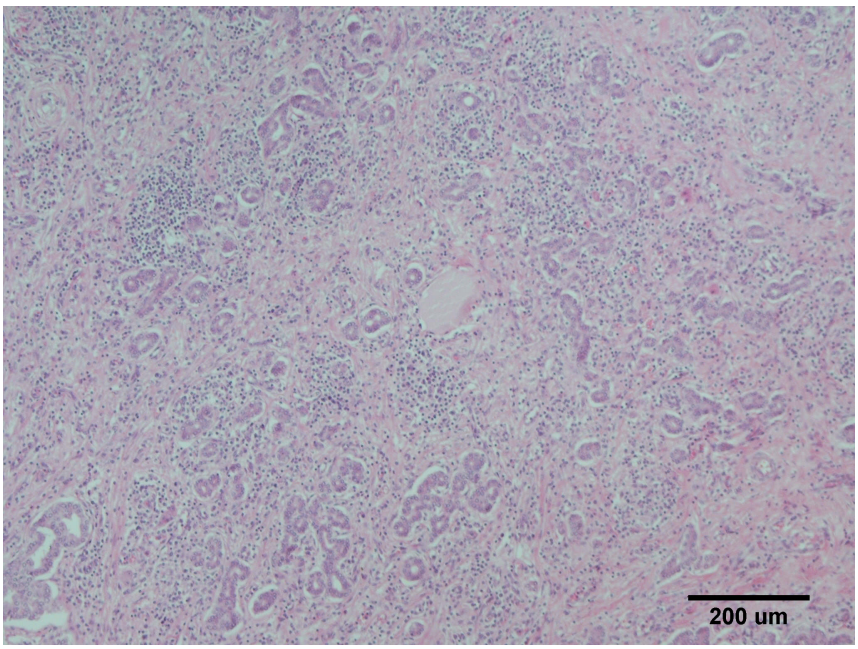
Resim 3.1.2.3. Karaciğer. Daha geniş ve birleşen kazeifiye alanları içeren konglomere tüberkül, H.E.



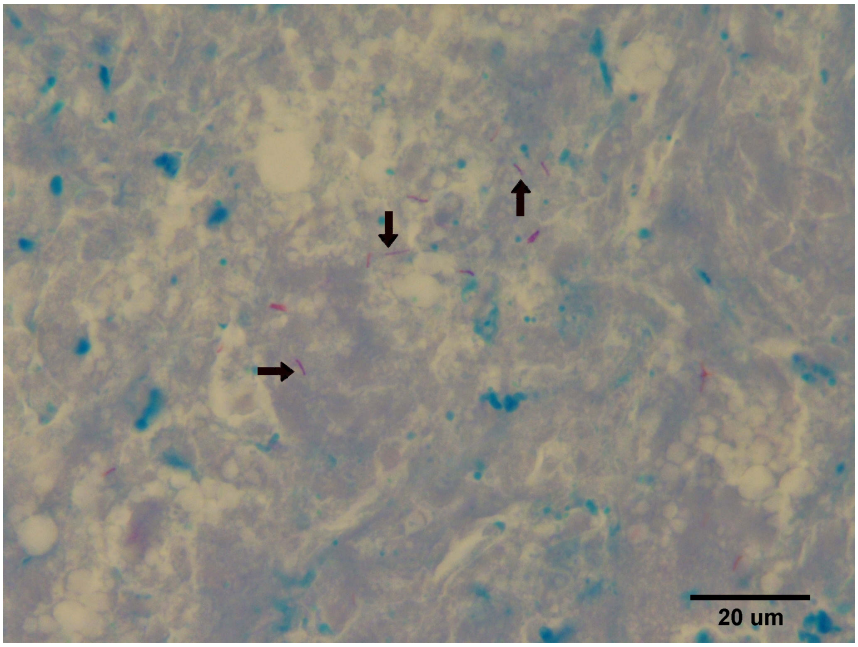
Resim 3.1.2.4. Karaciğer. Tüberkül (siyah ok) ve tüberküllerin safra kanalına açılması. Bu alanlarda safra kanalı epitellerinde dejenerasyon, nekroz ve dökülmeler ile safra kanalı lümeninde dilatasyon ve nekrotik kalıntılar(beyaz ok). H.E.



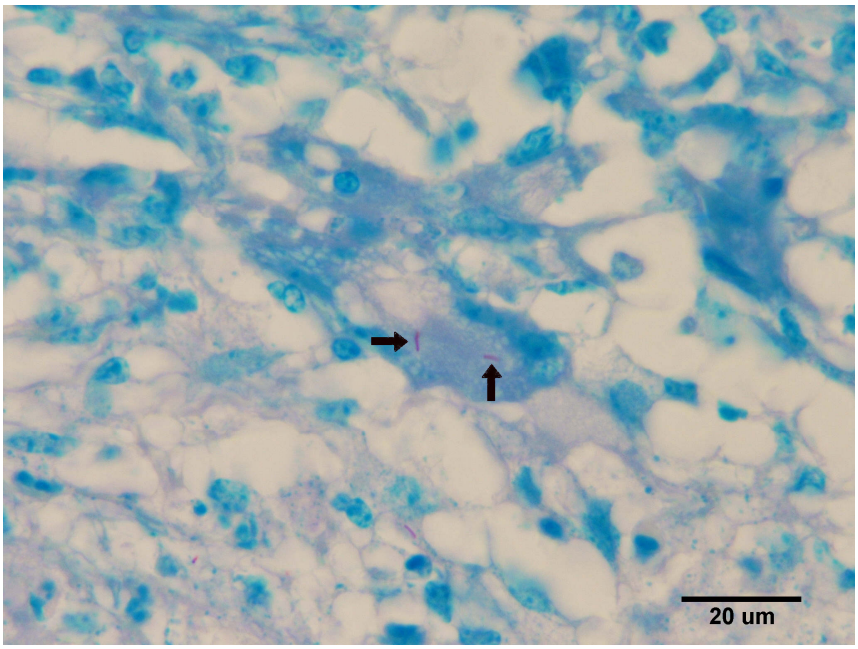
Resim 3.1.2.5. Karaciğer. Safra kanalına açılmış bir tüberkül ve bu alanda Langhans tipi dev hücresi (ok) safra kanalı epitellerinde dejenerasyon, nekroz ve dökülmeler. H.E



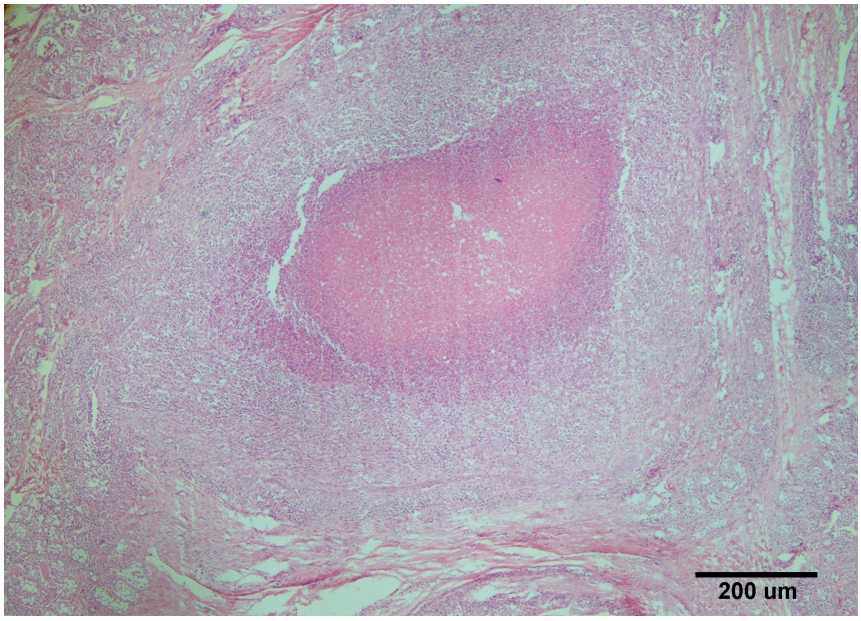
Resim 3.1.2.6. Karaciğer. Tüberkül gözlenen olguda safra kanalı proliferasyonları. H.E.



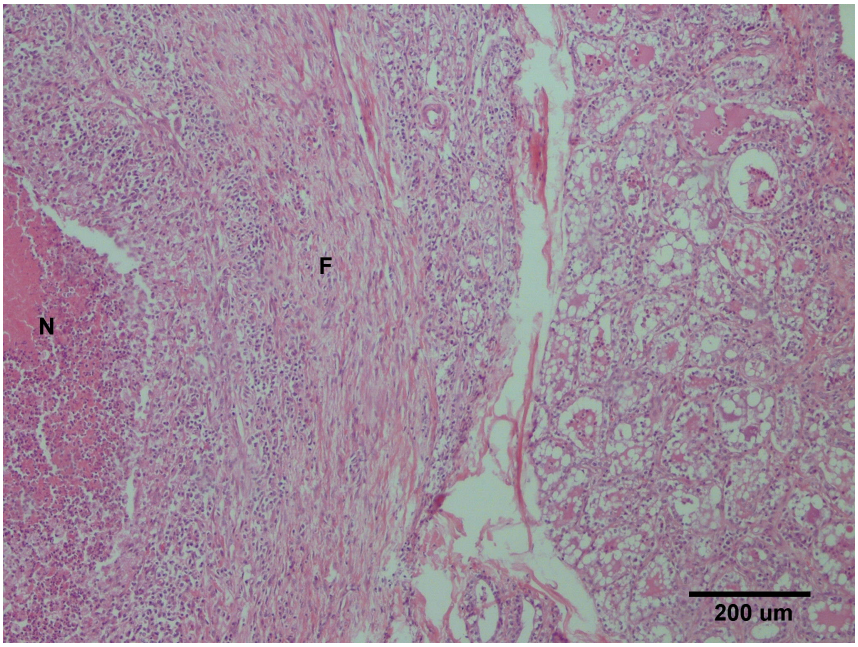
Resim 3.1.2.7. Karaciğer. Nekrozların çevresinde küçük, kırmızı renkli çubuk şeklinde tüberküloz etkenleri (oklar). ZN.



Resim 3.1.2.8. Karaciğer. Langhans tipi dev hücre stoplazmasında küçük, kırmızı renkli çubukşeklinde tüberküloz etkenleri (oklar). ZN.



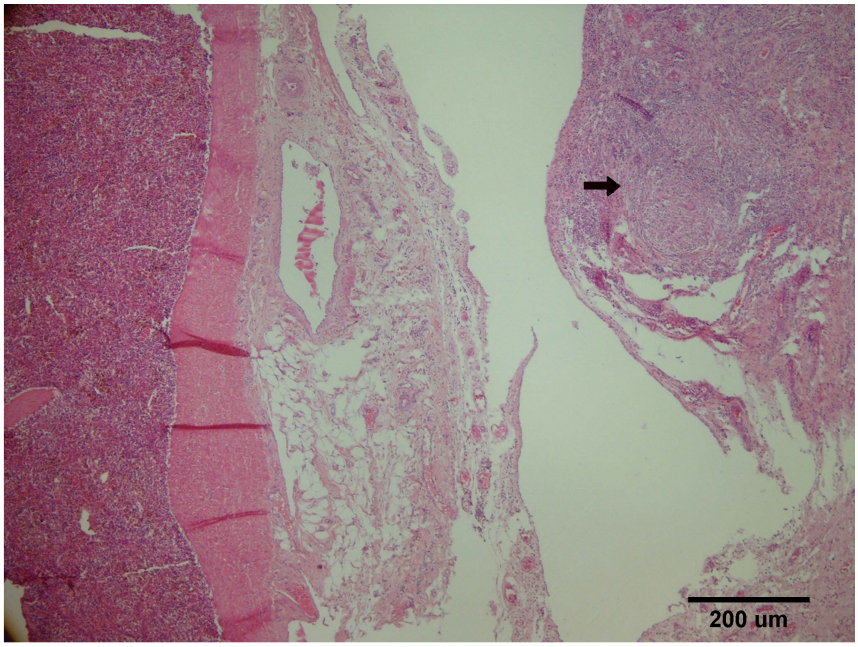
Resim 3.1.3.1. Meme. Tüberkül yapısına benzeyen ortada yoğun nötröfil granülositler, nekrotik yapılar ve kalın bir fibröz kapsülle çevrili apse, HE.



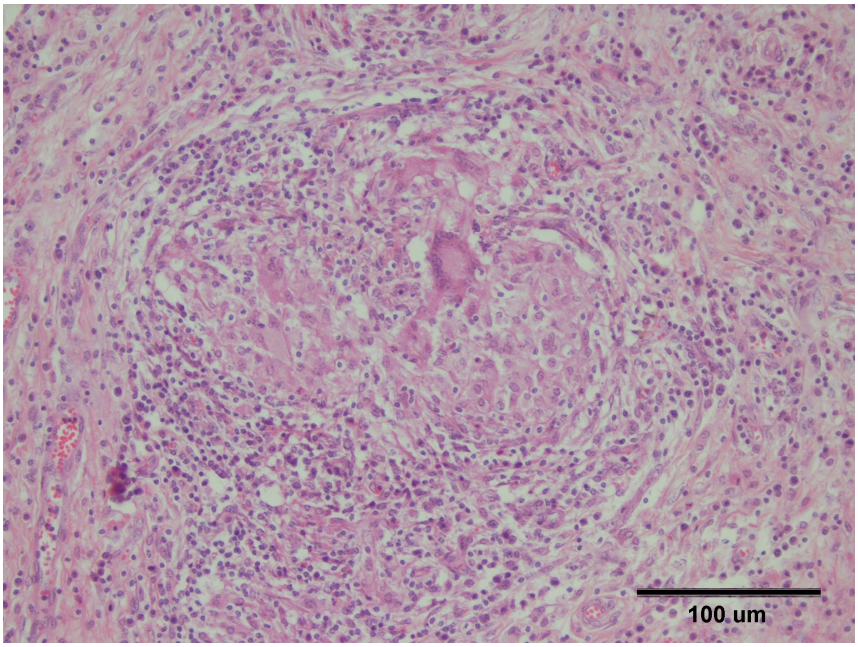
Resim 3.1.3.2. Meme. Kronik irinli apseli mastitis. Alveollerde yoğun nötröfil granülositler, nekrotik yapılar (N) ve fibröz kapsül (F), HE



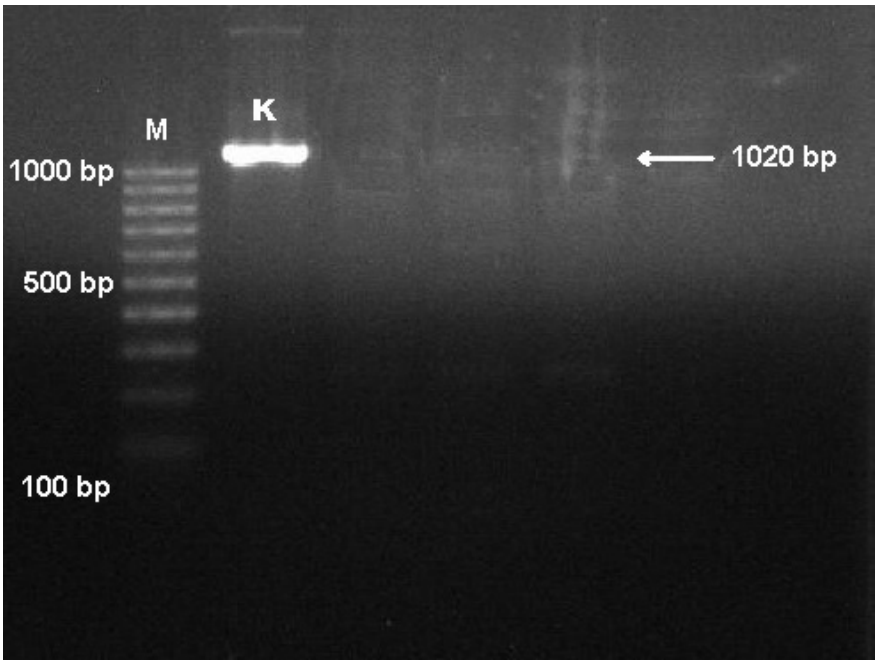
Resim 3.1.4.1. Dalak. Kapsülada fokal granülom (ok).



Resim 3.1.4.2. Dalak. Kapsülada kalınlaşma ve bu alanlarda epiteloid granulomlar (ok). HE



Resim 3.1.4.3. Dalak. Epiteloid granulomda yoğun epiteloid hücreler ve Langhans tipi dev hücresi, H.E.



Resim 3.2.1. Süt örneklerinde mikobakteriler yönünden negatif PZR görüntüsü. M: 100 bp marker (Fermantas), K: *M. tuberculosis* H 37 Rv

4. TARTIŞMA

Mikobakterium genusuna bağlı bakterilerin oluşturduğu Tb, gerek insan gerekse hayvan sağlığını olumsuz yönde etkileyen, başta akciğer olmak üzere diğer organ ve dokularda kazeöz ve kazeökalseröz tüberküllerin oluşması ile karakterize kronik, bulaşıcı ve zoonotik bakteriyel bir hastalıktır (Carter ve Wise 2004; Aydın ve ark 2006, Palmer ve Waters 2006). Türkiye'de 3285 sayılı Hayvan Sağlığı ve Zabıtası Kanunu ve Yönetmeliğine göre sığır Tb ihbari mecburi ve mücadelesi zorunludur (Anonim 1995).

Tb, insanlar ve diğer memeli hayvanlar için halen önemini korumaktadır. *M.bovis* sığırlarda Tb enfeksiyonuna yol açarak ekonomik kayıplara yol açmasının yanı sıra, insanlarda da önemli bir halk sağlığı problemidir ve insanlardaki Tb vakalarının % 10'unda *M.bovis* etkendir (Cosivi ve ark 1998). İnsanların pastorize edilmemiş süt ürünlerini tüketmeleri ve *M.bovis* içeren damlacık veya toz damlacıklarının solunması ile gelişen akciğer Tb'u erişkinlerde ve hayvancılıkla uğraşan bireylerde görülmektedir (Velayati ve ark 2007). Birleşik Krallık, Galler ve Kuzey İrlanda'da 1993-2003 yılları arasında 315 kültür pozitif *M.bovis* vakasının irdelendiği çalışmada, bulaşmanın %49'unun pastörize edilmemiş süt ürünü tüketimi, %37'sinin ise, hayvanlarla temas sonrası geliştiği saptanmıştır (Jalava ve ark 2007).

Ülkemizde sığır Tb'unun insidansına ilişkin az sayıda çalışma mevcuttur. 1996-1997 yılları arasında ELISA ile sığır tüberkülozunun seroepidemiyoloji projesi'nde ülke çapında sığırlardan toplanan 12.904 adet serum kontrol edilmiş ve sığır Tb'unun prevalansı %10 olarak belirlenmiştir. Sığır Tb'unun tüberkülin testi baz alınarak yapılan prevalans çalışmalarında sürü ve bireysel prevalans Trakya bölgesinde (Edirne, Kırklareli, Tekirdağ) düşük, Sakarya ve Tokat'ta sürü prevalansı; Kastamonu ve Elazığ'da bireysel prevalans yüksek bulunmuştur. Ülkemizde hayvan sayısının fazlalığı ve coğrafi dağılımının çeşitliliği, hayvan hareketlerinin yoğun olması ve kontrol sisteminin yetersizliliği nedeniyle prevalansta her yıl değişimler gözlenmektedir (Akçay 2000).

Türkiye'de sığır Tb'unun eradikasyonuna yönelik 1986 yılından bugüne kadar ülke çapında yaygın bir eradikasyon projesi uygulanmamasına karşın, uzun yıllardır çeşitli resmi kurum ve kuruluşlardaki hayvanlarda Tb mücadelesi sürdürülmektedir. Pastörize olmayan süt ve süt ürünlerinin üretim ve kullanımına yönelik düzenlemeler ve *M.bovis* ile süt hayvanlarının enfeksiyonunun önlenmesi ve eradikasyonu, *M.bovis* enfeksiyonlarına yönelik etkili ve toplum sağlığı açısından da önemli yöntemlerdir (Akçay 2000).

PPD deri testi, tüberkülinin deri içi enjeksiyonundan sonra oluşan gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonunun ortaya konulmasına dayanan, sığır Tb'unun antemortem teşhisinde kullanılan uluslar arası standartlarda bir testtir (Awah-Ndukum ve ark 2012). Bu test eradikasyon programlarında pozitif reaksiyonların elimine edilmesinde tüm dünyada kullanılmaktadır. PPD pozitif test sonucu, Tb enfeksiyonunda canlının tüberküloz basili ile duyarlı hale geldiğini göstermektedir (Good 2006). Sunulan çalışmada PPD tüberkülin testi yapılmış ve test sonucu pozitif olan kesime sevkedilmiş ve Amasya ili Suluova Pan-Et Mezbahası'nda kesilen 100 inekten doku ve süt örnekleri alınmıştır. Kesime sevkedilen bu hayvanların tümü PPD tüberkülin testine pozitif reaksiyon vermiş olmalarına rağmen; yapılan patomorfolojik incelemelerde 75 tanesinde Tb vakasına rastlanmıştır. Cousins ve ark. (1993) yaptıkları çalışmada sığırlarla birlikte otlatılan bir keçi sürüsünden seçtikleri, sağlıklı görülen 19 keçiye PPD testi uygulamışlar ve 13'ünün pozitif reaksiyon belirlenmesine rağmen, bunların hiçbirinde makroskobik olarak bir lezyon bulunmadığını kaydetmişlerdir. Ankara keçilerinde yapılan bir çalışmada ise, 656 keçiden 46'sının tüberkülin testine pozitif reaksiyon verdiği ve postmortem muayenede yalnızca 4 tanesinde Tb lezyonları görüldüğü bildirilmiştir (Edington 1989). *M.bovis* BCG ile aşılama ve Nocardia, Rhodococcus, Corynebacterium gibi mikobakteriumlar ile çapraz antijenlere sahip bakteriler nedeni ile PPD deri testinde yanlış pozitif sonuçlara sebep olmakta ve bunlardan dolayı testin sensivitesi düşük kalmaktadır (Vordermier ve ark 2001, Dunn ve ark 2005, Rua-Domenech ve ark 2006). Sayın (2010) yaptığı çalışmada PPD deri testi uygulanan 772 inekten 169'unda PPD pozitif sonuç tespit etmiş, deri testinin ortalama sensitivitesini %69,8, spesifitesini %98 olarak hesaplamıştır. PPD deri testine alternatif bir test geliştirilip tüm dünyada kullanılır hale getirilememiştir (Rua-Domenech ve ark 2006). Buna

karşın ABD, Kanada, İngiltere gibi ülkelerde düzenli tüberkülin testi ve pozitif sığırların kesimi ile sığır tüberkülozu eradike edilmiştir (Cousins 2001) .

Sığır Tb'unda yaş, cinsiyet, sürü büyüklüğü, vücut kondisyonu, çiftlik sistemi ve doğum yaygınlığı önemli risk faktörleridir (Oloyo ve ark 2006, Inangolet ve ark 2008). Yapılan çalışmalarda dişi hayvanların erkek besi sığırlarına göre daha çok Tb'a yakalandığı bildirilmiştir (Alverez ve ark 2012). İspanya'da bir yıl boyunca 1700 sığır üzerinde yapılan çalışmada, IFN-γ testi ile dişi sığırlarda erkeklere göre Tb olgusunun daha fazla olduğu belirlenmiştir. İneklerde hastalığın daha sık görülmesinin sebebi bu hayvanların kapalı ahırlarda daha uzun süre durması ve dolayısıyla daha fazla temas ve etkileşimin söz konusu olmasına bağlamışlardır (Ramirez-Villaescusa ve ark 2009). Başka bir çalışmada, vücut kondisyonu iyi olan dişi hayvanlarda Tb vakalarının daha sık olarak görüldüğü ve prevalansın %17 olduğu saptanmıştır (Milian-Suazo ve ark 2000). Sunulan çalışmada kesime gelen hayvanların geldiği bölgeler (Samsun, Çorum, Kastamonu) göz önüne alındığında hastalığın bahar dönemi başlangıcında ortaya çıktığı, hayvanların kış dönemi boyunca kapalı ve sıkışık ahırlarda barındırılması sonucu temas ve aerosol yolla bulaşmanın etkili olduğu düşünülmüştür. Besi hayvanlarının ineklere göre daha erken kesime sevkedilmesine karşın, süt sığırlarının çok uzun yıllar ahırlarda tutularak enfeksiyona daha fazla maruz kalmaları, bu doğrultuda yapılan araştırmaları (Milian-Suazo ve ark 2000, Ramirez-Villaescusa ve ark 2009, Alvarez ve ark 2012) doğrular niteliktedir .

Tb her yaş sığırda görülmekle beraber yaşın ilerlemesine bağlı olarak artış göstermektedir (Pollock ve ark 2012). Enríquez-Cruz ve ark. (2010) Meksika'da 1995-1998 yılları arasında rutin mezbaha çalışmaları yapmışlar, 599 sığır ve doku örneklerini incelemişler, çalışma sonucunda yaşa bağlı olarak hastalığın görülme prevalansı buzağılarda %4, düve-danalarda %1,79, yetişkinlerde %19,3 olarak belirlemişlerdir. Aynı zamanda hiç doğum yapmamış hayvanlarda oran %8,33 iken doğum yapmış olan hayvanlarda %61 olarak belirlenmiş ve ilk doğum yapanların birkaç doğum yapan sığırlara göre hastalığa yakalanma oranının daha düşük olduğunu ifade etmişlerdir. Tb'a yakalanma oranının 4-6 yaş arasında daha sık olduğunu ifade eden yayınlar (Lauzi ve ark 2000, Farrington ve ark 2001, Oloya ve ark 2006, Awah-Ndukum ve ark 2012) bulunduğu gibi, 10 yaşdan büyük sığırların

enfeksiyona yakalanma riskinin daha fazla olduğunu da bildiren yayınlar da vardır (Cleaveland ve ark 2006). Sunulan çalışmada kesime sevkedilen hayvanların yaşlarının 3-10 arasında değiştiği ve çoğunun 6 yaş (32 olgu) ve 4 yaşında (31 olgu) olduğu dikkati çekmiş, 3 yaşındaki süt sığırlarının 8 adedinde Tb tespit edilmiş ve bunların ya akciğer ya da karaciğer Tb'una yakalandıkları belirlenmiştir.

Ameni ve ark (2007) yaptıkları çalışmada *M.bovis'*ten kaynaklanan Tb olgusuna yakalanma oranının sığır ırkları arasında farklılık gösterdiğini rapor etmişlerdir. Süt veriminin fazla olduğu Holstein ırkının Tb'a daha fazla yakalandığı bildirilmiştir (Ameni ve ark 2003, Laval ve Ameni 2004). Firdessa ve ark (2012) Etiyopya'da 88 çiftlikte 2956 sığır ırkı üzerinde yaptıkları çalışmada Montofon ırklarının Tb'a daha dayanıklı, ancak süt verimi fazla olan Holstein ve Jersey ırklarının daha duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da benzer şekilde PPD testi pozitif saptanan ve kesime sevkedilen ineklerin %87'sinin Holstein ırkına ait olduğu dikkati çekmiş, diğer ineklerin % 7'sinin Simental, % 3'ünün Yerli Kara, % 2'sinin Montofon ve % 1 'inin Jersey ırkı olduğu görülmüştür. Ülkemizde ise tüberküloz lezyonlarının ırklara göre dağılımı ile herhangi bir yayına rastlanılmadığı için kıyaslama yapılamamıştır.

Sığırlar arasında Tb; solunum, sindirim, genital ve kongenital yol ile bulaşmaktadır. Tb lezyonlarının lokalizasyonunun özellikle organın Tb'a karşı duyarlılığına bağlı olduğu ve belirlenmesinin; hastalığın bulaşma şeklinin ortaya konulması ile mezbahalarda et muayenesi bakımından önemli olduğu belirtilmiştir (Pritchard 1988). Bu konuda farklı görüşler olmasına rağmen, birçok araştırıcı *M.bovis*'in en önemli bulaşma yolunun aerosol yolla olduğunu savunmuşlardır (O'Reilly ve ark 1995, Aydın ve ark 2006, Özbey ve ark.2008). Menzies ve Neill (2000) ise enfekte sütün emilmesi, kontamine mera veya sudan direkt olarak *M.bovis*'in alınmasıyla sindirim yolu ile bulaşma olacağını da ileri sürmüşlerdir. Yapılan çalışmalarda sığırlarda akciğerlerin hastalıktan en çok etkilenen organ olduğu rapor edilmiştir (Neill ve ark 1988, Whipple ve ark 1996). Mckay (1959) incelemiş olduğu 872 vakanın %80'inde akciğerde lezyon bulunduğunu açıklamış, Ortatatlı ve ark (1998) ise 53 granülamatöz pnömonili sığırdan 45'inde akciğerde tüberküloz tespit etmişlerdir. Yapılan araştırmalarda Tb basilinin dorso kaudal bölgede daha çok görüldüğü, görülme sebebinin ise bu alanlarda kötü ventilasyondan

dolayı etkenin üremesi için uygun ortam olduğunu ileri sürmüşlerdir (Diker 1989, Ortatatlı ve ark 1998).

Akciğerdeki Tb lezyonlarının bezelyeden yumruk büyüklüğüne kadar değişebileceği, bunların dağılımının ise farklılık gösterdiği, erken generalizasyon sırasında çok sayıda milier tüberküllerin görülebileceği gibi, kronik generalizasyonda yaşları değişik daha az sayıda tüberküllere de rastlanabileceği kaydedilmiştir (Urman, 1983). Sunulan çalışmada lezyonların 32'si (%62,7) diffuz, 10'u (%19,6) fokal, 4'ü (%7,8) multifokal yerleşimli olup, 5 olayda (%9,8) ise birbirleri ile birleşen ve daha geniş kazeifiye alanlar içeren konglomere granülomlar dikkati çekmiştir. Makroskobik olarak incelenen lezyonların 12 adedinin (%23,5) 25-30 mm, 9 adedinin (%17,6) 4-6 mm, 4 adedinin (%7,8) 6-10 mm, 3 adedinin (%5,9) 15-25 mm.büyüklüğünde olduğu gözlenmiştir. Ayrıca lezyonların 19 adedinin (%37,3) 4-6 mm ile 6-10 mm., 4 adedinin (%7,8) 10-15mm ile 15-25 mm boyutlarında olduğu tespit edilmiştir. Lezyonların akciğerdeki dağılım ve boyutları dikkate alındığında küçük boyutta (4-10 mm) ve diffuz dağılım gösteren olguların akut generalizasyonla ilgili milier tüberkül, farklı boyutta olan fokal ve multifokal dağılım gösteren olguların ise kronik generalizasyonla ilgili olabileceği düşünülmüştür. Ortatatlı ve ark (1998) yaptıkları çalışmada lezyonların milier-mercimek büyüklüğünde olup, bazı olgularda da bunların bir araya gelmesi ile nohuttan-ceviz büyüklüğüne kadar varabildiğini belirtmişler, sunulan çalışmada akciğerde gözlenen değişikliklerde bu araştırıcıların bulguları ile benzerlik göstermiştir.

Sığır Tb'unda lezyonların genellikle prodüktif ya da etkenlerin sayıca çok ve virülenslerinin yüksek, konakçı direncinin düşük olduğu durumlarda eksudatif karakterde olduğu belirtilmiştir (Cancela ve Marin 1993). Sığır Tb lezyonları özellikle akciğer, plöra ve mediastinal lenf düğümlerinde, daha az olarak da diğer organlarda yonca yaprağı görünümünde tek ya da konglomere granülomlar oluşturmaktadır. Mikroskobik olarak genç bir granülomda epiteloid makrafojlar, Langhans tipi dev hücreleri, lenfositler ve plazmositlerin oluştuğu bilinmektedir (Beytut 2001). Hastalık ilerlediğinde ise fibröz kapsülle çevrili, merkezinde kazeifikasyon nekrozu ve kalsifikasyon bulunan granülomlar şekillenmektedir (Beytut 2001, Palmer ve ark 2006). Çalışmamızda tüm lezyonların prodüktif yapıda

olduğu dikkati çekmiş, 5 olguda da lezyonların konglomere yapıda oldukları gözlenmiştir.

Mikroskobik incelemelerde yaygın kazeifikasyon nekrozu, kalsifikasyon, lenfohistiyositer infiltrasyonla birlikte epiteloid ve Langhans tipi dev hücre ile fibröz kapsül oluşumu ile karakterize tipik tüberkül yapıları gözlenmiş ve bu bulgular daha önce bildirilen (Pritchard 1988, Beytut 2001, Palmer ve ark 2006) bulgularla benzerlik göstermiştir.

İnsan Tb olaylarında kavitasyon veya kavern oluşumu söz konusudur, ancak sığırlarlarda nadiren görüldüğü bildirilen ve etkenden zengin balgamın atılmasının yaygın olduğu kronik akciğer Tb'nun bir bulgusu olan kavernlere (Mckay 1959) sunulan çalışmada rastlanmamıştır.

Akciğerdeki tüberküllerin zamanla bronş ve bronşiyollere açılabileceği belirtilmiş (Ortatatlı ve ark 1998, Akıllı ve ark 2012) benzer şekilde sunulan çalışmada da bazı tüberküllerin bronş ve bronşiollere açıldığı, epitel tabakasının kısmen nekroza uğradığı, lümenlerinin dejenere ve deskuame hücreler ile nötrofil granülositlerle dolu olduğu görülmüştür. Tüberküllerin bu şekilde bronş ve bronşiyollere açılmasının hastalık etkenlerinin akciğerlerden dış ortama yayılmasında etkili bir yol olabileceği kanısına varılmıştır. Benzer şekilde, Akıllı ve ark (2012) Çukurova bölgesinde 5000 baş sığır üzerinde yaptıkları çalışmada, rastlanan Tb vakalarında bronş ve bronşiol boşluklarının irinli- nekrotk bir kitle ile dolduğunu, bu yüzden tıkanıklık ve duvarının şekil bozukluğuna uğradığını belirtmişlerdir.

Ortatatlı ve ark (1998) yaptıkları çalışmada Tb olaylarının hepsinin interstisyel pnönoni veya eksudatif tipteki bir pnömoni ile komplike olduğunu, makroskobik olarak sadece granülom belirlenen olgularda dahi mikroskobik incelemelerde en azından bir interstisyel pnömoni tablosunun bulunduğunu ifade etmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada da incelenen akciğerlerde Tb saptanan olguların tamamına yakınında interstisyel pnömoni ve bir olguda da kataral bronkopnömoni gözlendi. Bu olgularda ayrıca, akciğer tüberküloz vakalarında gözlendiği bildirilen (Hadley RSC ve ark 1991, Beytut 2001) ödem ve amfizeme de rastlanmıştır.

Sunulan çalışmada karaciğerde 61 hayvanda Tb lezyonuna rastlanılmıştır. Sığırlarda karaciğer Tb'unun özellikle peritonitis vakalarında, tüm yaşlarda abdominal boşlukta tüberkülozun önemli bir belirtisi olduğu açıklanmıştır (Mckay 1959). Çalışmamızda lezyonların 34'ü (%55,7) diffuz, 19 adedi (%31,1) fokal, 2'si (%3,3) ise multifokal yayılım göstermekte idi. 6 olayda (% 9,8) ise konglomere yapılar saptandı. Makroskobik olarak incelenen lezyonların 16 adedinin (%26,2) 25-30 mm, 9 adedinin (%14,8) 15-25 mm, 5 adedinin (%8,1) 6-10 mm, 4 adedinin (%6,6) 4-6 mm boyutlarında olduğu gözlemlendi. Ayrıca lezyonların 25 adedinin (%41) 4-6mm ile 6-10 mm., 2 adedinin (%3,3) 10-15mm ile 15-25 mm büyüklüğünde olduğu tespit edildi. Diker ve ark. (1989) yaptıkları çalışmalarda lezyonların kapsülada toplu iğne başından bezelye büyüklüğüne değişen yapıda olduğunu belirtmiştir. Yapılan çalışmalarda (Luke 1958, Mckay 1959) karaciğer Tb'unda safra kanallarının basili ihtiva ettiği ve bağırsaklata taşıdığı da rapor edilmiştir Sunulan çalışmada da benzer şekilde 29 olguda tüberküllerin safra kanalına açıldığı dikkati çekmiş ve etkenlerin safra yolu ile barsaklara geçerek sindirim kanalında hastalığın oluşmasına yol açabileceği ve etkenlerin sindirim kanalından dışkı ile çevreyi kontamine edebilecekleri kanısına varılmıştır.

Karaciğer parenkiminde hepatositlerin nekrozu ve epiteloid makrofajların birikimi ile başlayan granülom oluşumlarına parasentral ve portal üçgen aralığında rastlanıldığı, etkenin hematojen yolla yayılmasının bu şekilde lokalizasyona neden olabileceği yorumlanmıştır (Rhyna ve ark 1995, Other ark 1995). Ayrıca karaciğerde Tb saptanan olguların 4'ünde fasiolazise de rastlanmıştır. Tb olaylarında fasiolazise rastlanıldığı, ancak fasiolazisin insan ve hayvan tüberkülozunda immünolojik tanı testlerinde duyarlılığı azalttığı belirtilmiştir (Broughan ve ark 2010). Aynı şekilde İngiltere'de 3026 hayvan üzerinde yapılan çalışmada fasiolazis ile PPD testi arasında negatif bir ilişki olduğunu ve PPD test duyarlılığını azalttığı belirlenmiştir (Gilbert ve ark 2005). Safra kanalı hiperplazilerinin, karaciğerin zedelenmeye karşı gösterdiği reaksiyonlardan birisi olduğu ve parenkimde şekillenen bozukluklardan bağımsız olarak oluştuğu ve özellikle irritan stimulusun portal aralıklarda etkili olduğu durumlarda oluştuğu bildirilmiştir (Milli 1997). Bununla birlikte genç hayvanlarda hızlı şekillenmesine rağmen, genellikle uzun süren karaciğer hasarına karşı geliştiği belirtilmiştir (McGavin ve Zachary 2006). Çalışmada incelenen ve karaciğerlerde Tb

saptanan tüm olgularda (61 olgu) farklı yoğunlukta gözlenen safra kanalı hiperplazilerinin karaciğerde meydana gelen hasar ve Tb'un kronik seyirli etkisi sonucu oluştuğu kanısına varılmıştır.

Çalışmamızda ineklerde PPD pozitif olan hayvanlarda Tb lezyonlarının meme dokusunda varlığı ve bununla ilgili olarak etkenin süt ile dışarı atılıp atılmadığı da çalışmanın amaöları arasında yer almıştır. Sunulan çalışmada 74 adet inekte mastitis gözlenmiş, 25 olguda akut kartaral mastitis ve galaktoforitis (AKMG), 17 olguda da kronik kataral mastitis ve galaktoforitis (KKMG) teşhis edilmiştir. Bu olguların dışında, makroskobik olarak tüberkülozdan şüphelenilen 32 olguda granülom benzeri oluşumlar dikkati çekmiş, bunların 16'sı (%50) multifokal, 8'i (%25) fokal, 8'i (%25) diffuz dağılım göstermiştir. Makroskobik olarak incelenen lezyonların 8 adedinin (%25) 25-30 mm, 16 adedinin (%50) 10-15mm-15-25 mm., 8 adedinin (%25) 6-10 mm-10-15 mm boyutlarında olduğu tespit edildi. Mikroskobik incelemelerde, bu şekilde granülom benzeri yapılar ilk bakışta produktif infiltratif meme tüberkülozuna benzetilmiş, ancak tüberküllerden farklı olarak ortadaki nekrotik alanlarda yoğun nötrofil granülositlerin de olduğu ve çevrelerinde yoğun bağ dokudan oluşan fibröz kapsülle çevrelendiği farkedilmiştir. Bu nekrotik-irinli yapıların çevresinde epiteloid hücre, Langhans tipi dev hücreleri ve ZN boyamalarda Tb etkenlerine rastlanmamış, bununla birlikte PZR ile yapılan incelemelerde de sütte Tb etkeni saptanamamıştır. Bu veriler dikkate alındığında bu lezyonların kronik irinli apseli mastitisle ilgili olduğu kanısına varılmıştır. Erer ve ark.'ları (1996) 118 adet mastitisli inekten akdıkları 232 adet meme lobu üzerinde yaptıkları çalışmada bir ineğe ait 3 lopta, parankim, süt kanalları ve sisternada yaygın lenfosit, epiteloid hücre infiltrasyonları ve kazeifiye alanlar ile intersitisyel dokuda kazeifiye ve kalsifiye tüberküller gözlemlemişler, bu alanlarda fokal ve diffuz şekilde lenfositer infiltrasyonlar, epiteloid hücre, makrofaj toplulukları, Langhans tipi dev hücreleri tespit etmişler, ZN yöntemi ile boyamalarda çok sayıda etken saptamışlardır.

Dalağın sığır Tb'unda sıklıkla etkilendiği, özellikle konjenital enfeksiyonların önemli belirtisi olduğu belirtilmiştir (Hadley ve ark 1991). Bursa yöresinde sığırlar üzerinde yapılan bir çalışmada dalakta % 6,7 oranında Tb lezyonu bulunduğu bildirilmiştir (Diker 1989). Sunulan çalışmada ise sadece iki olguda (%2) epiteloid granuloma rastlanmıştır. Bu olgularda kapsülanın aşırı derecede kalınlaştığı ve bu

alanlarda Langhans tipi dev hücresi saptanmıştır. Ancak ZN ile yapılan boyamalarda Tb etkenine rastlanılamamıştır.

Sunulan çalışmada Tb'la ilgil böbrek ve kalpte makroskobik ve mikroskobik olarak herhangi bir bulguya rastlanılmamıştır. Bununla birlikte mikroskobik incelemelerde böbrekte; 50 olguda fokal mononükleer hücre infiltrasyonu, 20 olguda mineralizasyon, 2 olguda kapsülada kalınlaşma, kistik yapı ve 3 olguda fokal irinsiz intersitisyel nefritis gözlendi.

Kalbin mikroskobik incelemelerinde ise 40 olguda sarkosporidler, 8 olguda fokal mononükleer hücre infiltrasyonu, iki olguda hiyalin dejenerasyonu, 4 olguda epikartta kalınlaşma, 1 olguda ise mineralizasyon dikkati çekti.

Çalışmada kesime sevkedilen ineklerin organlarındaki değişiklikler incelenirken organlara ait lenf düğümlerinin de incelenmesi planlanmış, fakat hem kesim öncesi süt örneklerinin alınması ve kesim sonrası organlardaki lezyonların kaydedilmesi hem de bu organlardan doku örneklerinin alınması işlemleri sırasında zaman ve yardımcı eleman yetersizliği nedeniyle, tüm vücut lenf düğümleri ile organlara ait lenf düğümleri alınamamıştır.

Akciğerde tüberküllerin görüldüğü 51 olgunun 41'inde, karaciğerde tüberküllerin görüldüğü 61 olgunun 48'inde ZN ile yapılan boyamalarda küçük kırmızı renkli çubuklar şeklinde tüberküloz etkenleri görülmüş, tüberkül yapıları belirgin olmasına rağmen akciğerde 10, karaciğerde 13 olguda ve dalakta 2 olguda ZN ile yapılan boyamalarda Tb etkenleri görülmemiştir. Ortatatlı ve ark (1998) yaptıkları çalışmada 49 olguda Tb lezyonları belirlemiş olmalarına rağmen, ZN boyamalarda 31 olguda Mikobakterium tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Cancela ve Marin (1993), inceledikleri Tb olgularında genel olarak hastalığın başlangıç dönemlerinde lezyonların gözlendiğini ve bunlarda da ZN boyamalarda etkenin çok az sayıda veya hiç bulunmadığını, yaptıkları çalışmada tüm olguların %52'sinde etken görebildiklerini bildirmişlerdir. Etken bulunmaksızın immun reaksiyonlarla da granülomatöz lezyonların oluşabileceği (Ridley ve ark 1982) veya bakterilerden açığa çıkan antijenlerle ve bakterilerin L-formlarıyla da aynı lezyonların şekillenebileceği (Fedoseev ve ark 1985) ifade edilmiştir. Sunulan

çalışmada kesime sevkedilen PPD pozitif ineklerde bazılarında tüberküllerin görülmesine rağmen yapılan ZN boyamalarda etkenin gözlenememesi bu araştırcıların görüşünü destekler niteliktedir. Goel ve Budhwar (2007) yaptıkları çalışmalada 36 Tb vakasında ZN boyamada 13 vakada etken tespit etmiş olmalarına rağmen, immunohistokimyasal boyamalarda vakaların tümünde etken tespit etmişlerdir. ZN ve immunohistokimyasal boyamaların arasında kıyaslama yapılan çalışmalar sonucunda; deneysel ve klinik Tb vakalarında ZN pozitif olguların oranı %0-44 arasında değişirken, immunohistokimyasal pozitif olguların oranı ise %69-100 arasında değiştiği bildirilmiştir (Luo 1990, Mukherjee ve ark 2002, Oliveira ve ark 2004). Bazı araştırmacılar (Ridley ve ark 1982, Fedoseev ve ark 1985) bu tür olaylarda ZN metodunun yetersiz olduğunu ve ancak immunpereksidaz yöntemi ile bakteriyel antijenlerin veya antikorların tespit edilebileceğini, hatta bazı olgularda bunun bile mümkün olamadığını ifade etmişlerdir.

Çiğ süt örneklerinde mikobakterilerin araştırıldığı bir çalışmada (Aydın ve ark 2012) 145 sığırdan çiğ süt örneği incelenmiş, EZN boyama sonucunda sadece 1 (%0.7) örnekte aside dirençli basil görülmüş, 11 (%7.6) örneğin LJ besiyerinde kültürü pozitif olarak belirlenmiş ve 6 (%4.1) örnekte PZR ile mikobakteri DNA'sı tespit edildiği bildirilmiştir. Sunulan çalışmada, kesimden önce 100 inekten alınan süt örneklerinin PZR yöntemine göre incelemeleri sonucunda hiçbirisinde Tb etkenleri saptanamamış, bununla birlikte incelenen meme dokularının hiç birisinde de tüberkül ve ZN boyamalarda Tb etkeni gözlenememiştir. Tb'un generalizasyonun her zaman şekillenmediği ve meme dokusunda Tb lezyonları gelişmiş olsa bile bu lezyonların süt kanallarına herzaman açılamayabileceği, açılsa bile sürekli olarak etkenin süte geçişinin mümkün olmaması nedeniyle, sütte Tb etkeninin saptanamamış olmasının memede Tb hastalığı olmadığı anlamına gelemeyeceği düşünülmüştür.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Amasya ili Suluova Pan-Et Mezbahasına daha önceden PPD testi uygulanmış ve PPD pozitif olduğu belirlenmiş 100 ineğe ait doku ve organların histopatolojik incelenmesinde 75 hayvanda Tb tespit edilmiş, 25'inde ise PPD pozitif olmasına rağmen, hem makroskobik hem de mikroskobik incelemelerde Tb'la ilgili herhangi bir değişikliğe rastlanamamıştır. Duyarlılığını sınırlayan pek çok faktör olmasına rağmen, PPD deri testi sığır Tb'unun antemortem teşhisinde uygulanabilirliğinin kolay olması ve maliyetinin az olması nedenleri ile tüm dünyada kullanılan ve en fazla tercih edilen testtir. Ancak; düşük spesifite ve sensitiveye sahip olmasından dolayı Tb'un antemortem teşhisinde tek başına yeterli değildir ve bundan dolayı duyarlılığı daha yüksek testlerin geliştirilmesi gerekmektedir.

Ayrıca Tb olaylarında ZN metodu ile çok az sayıda etken tespit edilmekte, hatta bazı olgularda hiç bulunamamaktadır. Bundan dolayı, ZN metodu etken tespitinde yetersiz kalmaktadır. Yapılacak immunperosidaz yöntemlerle bakteriyel antijen ve antikorların tespit edilebileceği ve daha doğru sonuçlar alınabileceği düşünülmektedir.

Son yıllarda ülkemizde evcil hayvanlarda Tb vakalarının artması; bundan dolayı çok büyük ekonomik kayıplara yol açmasının yanı sıra; zoonoz karakterde olması yönüyle de halk sağlığını da tehdit eden büyük risk faktörüdür. Sığır Tb etkeninin insan topluluklarında eradikasyonunun sağlanması gerekmektedir. Eradikasyon çalışmalarının başarılı olabilmesi için, enfekte sığırlardan doğru ve güvenilir metodlarla etken izolasyonu yapılarak teşhis edilmesi gerekmektedir. Alerjik ve serolojik testlerin duyarlılığı yetersizdir. Ayrıca sığır Tb'lu dokular az etken içermektedirler ve organlarda kazeifiye ve kalsifiye alanlar fibröz bir kapsülle kontrol altında tutulmaktadır. Bundan dolayı, mikobakterium izolatlarının moleküler doğrulanması ve/veya identifikasyonunun tam olarak sağlanması amacıyla hızlı ve güvenilir sonuçların alındığı PZR yönteminin yaygınlaştırılması, sığırlarda Tb vakalarının PZR yöntemi ile teşhisi konusundaki çalışmaların artırılması gerekmektedir.

Enfekte hayvanlardan mikobakteriumların insanlara geçişi, pastorize edilmemiş enfekte süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ile olmaktadır. Bundan dolayı zoonotik Tb enfeksiyonu için risk taşıyan çiğ süt örneklerini kapsayan geniş kapsamlı çalışmalara

ağırlık verilmeli ve çiğ süt örneklerinde mikobakterilerin izolasyonu yapılarak epidemiyolojik veriler elde edilmelidir. Tb etkenlerinin sütle herzaman atılmadığı gözönüne alınarak periyodik olarak etkenlerin sütte varlığı kontrol edilmelidir.

Yetiştirciler, mezbaha çalışanları ile hayvancılık sektörüyle ilgili diğer kişilerde *M.bovis*'ten kaynaklı Tb insidansı daha yüksek olabileceği göz önüne alındığında, her yıl bu kişilerin tüberküloz yönünden muayeneden geçmeleri sağlanmalıdır.

Ayrıca hayvancılıkla uğraşan tüm ilgi gruplarına zoonoz karakterde olan Tb hastalığı konusunda bilgi verilmeli, yetiştiricilere hijyen kuralları, sürü taraması ve arî sürüler konusunda bilgilendirme çalışmaları yapılması gerekmektedir.

6.ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Alerjik Deri Testi (PPD Tüberkülin) Pozitif İneklerde Tüberküloz Lezyonlarının Patolojisi ve Süt Örneklerinde Tüberküloz Etkenlerinin PCR ile Belirlenmesi

Çiğdem TUNCAY

Patoloji (Vet) Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2014

Bu çalışmada, çeşitli illerden PPD tüberkülin pozitif olduğu belirlenerek kesime sevkedilmiş 100 inekte doku ve organlarda meydana gelen değişiklikler ile sütte tüberküloz etkenlerinin varlığının saptanması amaçlandı. Çalışmada yaşları 3-10 arasında değişen, farklı ırklardan (Holstein, Simental, Jersey, Montofon,Yerli Kara) toplam 100 baş ineğin kesimden önce süt örnekleri alındı ve kesim sonrası akciğer, karaciğer, meme, dalak, böbrek, kalbin makroskobik ve histopatolojik incelemeleri yapılarak mikobakterilerin tespiti için dokularda Ziehl-Neelsen boyama yöntemi ve süt örneklerinde PCR metodu uygulandı. PPD testi pozitif 100 ineğin 25'inde herhangi bir lezyona rastlanamazken, 75'inde tüberküloz saptandı. Mikroskobik incelemelerde; 51 olguda akciğerde, 61 olguda karaciğerde, 37 olguda ise hem akciğer hem de karaciğerde tüberküloz belirlendi. Akciğerdeki olguların 29'unda (%56,8) tüberküllerin bronş ve bronşiollere açıldığı gözlendi. Bu 51 olgunun 41'inde ZN ile yapılan boyamalarda, tüberküloz etkenleri görülmesine rağmen, 10 olguda etkenlere rastlanamadı. Karaciğerde tüberkül saptanan 61 olgunun 29'unda (%47,5) bu tüberküllerin safra kanalına açıldığı dikkati çekti. Bu 61 olgunun 48'inde ZN ile yapılan boyamalarda tüberküloz etkenleri görüldü. Tüberküloz saptanan tüm olgularda safra kanalı proliferasyonlarına da rastlandı. İneklerin 74'ünde mastitis tespit edildi. Kesim sonrası yapılan makroskobik incelemelerde 32 inekte memede tüberkülozdan şüphelenilmesine rağmen yapılan mikroskobik incelemelerde bu olgular kronik irinli apseli mastitis (KİAM) olarak değerlendirildi. Mikroskobik incelemelerde; 25 olguda akut kartaral mastitis ve galaktoforitis (AKMG), 17 olguda ise kronik kataral mastitis ve galaktoforitis (KKMG) tespit edildi. Dalakta sadece iki olguda (%2) epiteloid granuloma rastlanırken, böbrek, kalp ve alınabilen lenf düğümlerinde Tb'la ilgili herhangi bir bulguya rastlanılmamıştır. Kesimden önce 100 inekten alınan süt örneklerinin PZR yöntemine göre incelenmeleri sonucunda hiçbirisinde Tb etkenleri saptanamamış, bununla birlikte incelenen meme dokularının hiçbirisinde de tüberküllere ve ZN boyamalarında Tb etkenlerine rastlanamamıştır. Sütte Tb etkeninin saptanamamış olmasının hayvanda Tb olmadığı anlamına gelemeyeceği ve Tb etkenlerinin sütle herzaman atılmadığı gözönüne alınarak periyodik olarak etkenlerin sütte varlığı kontrol edilmesi gerekmektedir. PPD pozitif hayvanların %25'inde tüberkülozla ilgili herhangi bir değişikliğe rastlanılmaması nedeniyle tüberkülozun antemortem teşhisinde duyarlılığı daha yüksek testlerin kullanımının geliştirilmesi gerekmektedir. Hayvancılık sektörü ile ilgili kişilere tüberküloz hastalığı konusunda bilgi verilmeli, yetiştiricilere hijyen kuralları, sürü taraması ve arî sürüler konusunda bilgilendirme çalışmaları yapılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: İnek; Patoloji; PCR; PPD; Süt; Tüberküloz.

7.SUMMARY

The Pathology of Tuberculosis Lesions and Detection of Tuberculos Agents in Milk with PCR on Allergic Skin Test (PPD Tuberculin) Positive Cows

This study was carried out to determine pathologic changes of tissues and organs and with presence of tuberculosis agent in milk of cows which were PPD tuberculin-positive and intended for slaughtering in various provinces. Animal material of this the study included total of 100 cows aging 3-10 years and from different breeds (Holstein, Simmental, Jersey, Brown Swiss and Anatolian Black). Milk samples were taken before slaughtering and PCR analysis was conducted to detect tuberculosis agent. In postmortem examinations, lung, liver, mammary, spleen, kidney, heart were taken for macroscopically and histopathological examination and detection of mycobacteria using Ziehl - Neelsen method. Out of 100 PPD test positive animals, no lesions were determined in 25 cows, however, lesions of tuberculosis were observed in 75 cows. In microscopic examination, tuberculosis were identified in lungs (51 cases), liver (61 cases) and in both liver and lungs (37 cases). Out of 51 cows (51%) having tuberculosis lesions in lung, it was determined that tubercle of the bronchi and bronchioles were open in 29 cases (56.8%). In 41 of these 51 cows tuberculosis was detected in ZN staining; but not detected in 10 cases. In 61 cases (61%), tuberculosis lesions were detected in the liver. Tubercle detected in 29 out of 61 cases (47.5%), it was noticed that tubercles were opened into the bile duct. Tuberculosis agents were seen on 48 out of 61 cases with ZN staining. Proliferation of bile duct was observed in all tuberculosis cases. Mastitis was detected in 74 cows. After slaughtering 32 cows, mammary tuberculosis was suspected in the macroscopic examinations. However, these cases were evaluated as chronic pyogenic abscesses mastitis (CPAM) microscopic examination. In microscopic examination, 25 cases of acute catarrhal mastitis and galactoforitis (ACMG) and 17 cases of chronic catarrhal mastitis and galactoforitis (CCMG) were detected. Epithelioid granuloma was detected in only two cases in the spleen (2%). Kidney, heart and lymph nodes were not found any Tb findings. No tuberculosis agents were detected by PCR analyses using milk samples taken from 100 cows before slaughtering. Also in all examined mammary tissues, tubercles or tuberculosis agents were not observed in ZN staining. Tuberculosis free milk does not mean that animal is also free from tuberculosis. Therefore, periodical milk inspections are suggested for controlling agent in the milk because tuberculosis agents are not always clearenced with milk. In some of tuberculosis PPD positive animals (25 cases), no changes were detected, therefore there is need for improving test having higher sensitivity for antemortem diagnosis. Also, persons who are involved in the livestock sector should be given information and raising awareness about on tuberculosis disease, hygiene measurements and disease free herds.

Key Words: Cow; Pathology; PPD; PZR; Milk; Tuberculosis.

8. KAYNAKLAR

1. Agun K, Leloğlu S, Rüzgar İ. Doğu Anadolu bölgesinde sığır tüberkülozu. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Bülteni. 1990;22 (1) :177-192

2. Ağaçayak A, Bulut Y, Seyrek A. Elazığ bölgesinde tüberkülozlu hastaların balgam örneklerinde mikobakteri tür dağılımının PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmesi. Mikrobiyol Bul. 2007; 41(2): 203-9.

3. Akay Ö. Aside dirençli bakteriler. In: Arda M, editör. Özel Mikrobiyoloji. 4. baskı. Ankara Medisan Yayınevi 1997:179-198.

4. Akçay E. Sığır tüberkülozunun teşhisinde kullanılan gamma interferon testi ile ELISA'nın karşılaştırmalı değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi. Doktora Tezi. 2000.

5. Akçay E. Sığır Tüberkülozu. Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. 2009. http://www.etlikvet.gov.tr./Vethalksagligi/tuberkuloz.htm,

6. Akıllı H, Yoldaş A, Özmen M, Topçuoğlu H, Turut N, Tuzcu N. Çukurova yöresinde sığırlarda görülen granülamatöz pnömonilerin etiyolojisinin histopatolojik ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi. AVKAE Der. 2012; 2:1-6.

7. Alan Ö. Akciğer Tüberkülozlu Hastalarda Hücresel İmmunite, Humoral İmmunite ve akut faz reaktanlarının rolü ve hastalığın radyolojik yaygınlığı ile ilişkisi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi.Uzmanlık Tezi. 2010

8. Allios AD, Picardeau M, Goh KS, Sola C, Vincent VR, Rastogi N. Comparative evaluation of PCR and commercial DNA probes for detection and identification to species level of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*. Journal of Clinical Microbiology. 1996; 34 (11) 2756-2759.

9. Altıntop Y. *Mycobacterium tuberculosis kompleks* izolatlarında çeşitli duyarlılık yöntemlerinin karşılaştırılması. Uzmanlık tezi. Kayseri. 2008.

10. Ameni, G., P. Bonnet, and M. Tibbo. 2003. A cross-sectional study on bovine tuberculosis in cattle and its zoonotic implications in selected zones of Ethiopia. Int. J. Appl. Res. Vet. Med.2003;1: 253-258.

11. Ameni G, Aseffa A, Engers H, Young D, Hewinson G, Vordermeir M. Cattle husbandry in Ethiopia is a predominant factor affecting the pathology of bovine tuberculosis and gamma interferon responses to mycobacterial antigens. Clin. Vaccine Immunol.2006; 13: 1030-1036.

12. Ameni G, Aseffa A, Engers H, Young D, Gordon S, et al. High prevalence and increased severity of pathology of bovine tuberculosis in Holsteins compared to zebu breeds under field cattle husbandry in central Ethiopia. Clin Vaccine Immunol. 2007; 14: 1356–1361.

13. Angela DP, Giuseppina C, Tony FV, Bijo B, Fatmira S& Giuseppina T. Detection of Mycobacterium complex in milk using polymerase chain (PCR). Food Control. 2006; 17: 776-780.

14. Anonim: 3285 sayılı Hayvan Sağlığı ve Zabıtası Kanunu. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Ankara. 1986.

15. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS. Özel Mikrobiyoloji. 4.baskı. Ankara. Medisan Yayın Serisi No:26. 1997:180.

16. Ashford DA, Whitney E, Raghunathan P, Cosivi O. Epidemiology of selected mycobacteria that infect humans and other animals. Rev. Sci. Tech. 2001 Apr; 20 (1): 325-37.

17. Alvarez J, Perez AM, Bezos J, Casal C, Romero B, Rodriguez-Campoz S, Saez-Llorente JS, Diaz R, Carpintero J, Juan L, Dominguez L. Eradication of bovine tuberculosis at a herd-level in Madrid, Spain: study of within-herd transmission dynamics over a 12 year period. BMC Vet Res. 2012; 8: 100.

18. Awah-Ndukum J, Kudi AC, Bradley G, Ane-Anyangwe I, Tıtanhi VPK, Fon-Tebug S, Tchoumboue J. Prevalance of bovine tuberculosis in cattle in the highlands of Cameroon based on the detection of lesions in slaughtered cattle and tuberculin skin tests of live cattle. Veterinarni Medicina. 57, 2012 (2): 59-76.

19. Aydın FE, Ülger M, Emekdaş G, Aslan G, Günal S. Mersin ilinde çiğ sütlerden resistant *Mycobacterium bovis* ve Tüberküloz dışı mikobakterilerin tanımlanması ve izolasyonu. Mikrobiyol Bul. 2012; 46 (2) : 283-289.

20. Aydın N, İzgür M, Diker KS et al. İn: Yardımcı H, editör. Veteriner Mikrobiyoloji. Mycobacterium İnfeksiyonlar. Ankara, İlke-Emek Yayınları, 2006. 87-107.

21. Ayele WY, Neill SD, Zinsstag J, Weiss MG, Pavlik I. Bovine tuberculosis and old disease but a new threat to Africa. Int J Tuber Lung Dis 2004; 8: 1-14.

22. Aytekin I, Kalkan Y, Mamak N, Özkan A. *Mycobacterium bovis* ile enfekte bir inekte saptanan granülamatöz lezyonlar. Atatürk Üniversitesi Vet.Bil.Derg. 2009;4: 177-122.

23. Baker MG, Lopez LD, Cannon MC, De Lisle GW, Collins DM. Continuing *Mycobacterium bovis* transmission from animals to humans in New Zeland. Epidemiol Infect. 2006 Oct;134(5): 1068-73.

24. Barnes PF, Modlin RL, Ellnes JJ. T cell responses end cytokines. In: Bloom BR, editor. Tuberculosis: Pathogenesis, protection ve control. Washington, DC: ASM Pres. 1994; 417-435.

25. Barcelos W, Martins-Filho OA, Guimaraes TM, Oliveira MH, Spindola-de Miranda S, Carvalho BN, Toledo Vde P. Peripheral blood mononuclear cells immunophenotyping in pulmonary tuberculosis patients before and after treatment. Microbiol Immunol. 2006; 50 (8): 579-605.

26. Barlow AM, Mitchell KA, Visram KH. Bovine tuberculosis in lama (Lama glama) in the UK. Vet. Rec. 1999; 145:639-640.

27. Bartos M, Hazek P, Suastova P, Dvorska L et all. Identification of members of *Mycobacterium avium* species by Accu-Probes, serotyping and single IS900, IS901, IS1245 and IS901 flarkng region PCR with internal standarts. J.Clin. Microbiol. 2006; 64: 333-345.

28. Baykal Y. Van yöresinde izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* suşlarının dört farklı yöntemle antimikrobiyel ajanlara duyarlılık tespiti. YYV Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Testi. 2008.

29. Behr MA. Ahistorical and molecular phylogeny of BCG, trains vaccine.2001; 17: 915-922.

30. Behring EV. Dtsch. med. Vschr, 29, 689, (1903). 'Alınmıştır' Stamp JT. Bovine pulmonary tuberculosis, Jour. Comp. Path.1948; 9-23.

31. Beytut E. Kars ili ve yöresinde sığırlarda tüberküloz insidansı ve lokalizasyonu üzerine patolojik incelemeler Kafkas Univ Vet Fak Der.2001;7:15-25.

32. Bilal S, Iqbal M, Murphy P, Power J. Human bovine tuberculosis - remains in the differential. J Med Microbiol. 2010 Nov;59 (Pt 11):1379-82.

33. Bilgehan H. Mycobacteriacea. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. İzmir. Barış Yayınları. 1990; 335-364.

34. Bilgehan H. Aşırı duyarlılık tepkimeler, Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. 9.baskı. İzmir, Barış Yayınları. 1999; 483-531.

35. Bilgehan H. Özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları. Klik Mikrobiyoloji, 10.baskı, İzmir. Barış yayınları. 2000:439-89.

36. Bolard F, Kelly GE, Good N, Moure SJ. Bovine tuberculosis and udde health in Irish dairy herds. The Veterinary Journal. 2012; 192:71-74.

37. Broughan JM, Durr P,Clifton-Hadley R, Colloff A, Goodchild T, Sayers R, Williamson S, Downs SH. Bovine tuberculosis and Fasciola hepatica infection.2010. http://www.bovinetb.co.uk/article.php?article_id=27

38. Brudey K, Driscoll JR, Rigoust L, Prodinger WM, Gori A, Al-Hajoj SA. Mycobacterium *tuberculosis complex* genetic diversity; mining the fourth international spoligothyping database (SpolDB4) forclassification , population genetics and epidemiology. BMC Microbiology.2006; 6:23.

39. Buddle BM, de Lisle GW, Preffer A; Aldwell FE. Immunological responses and protection aagainst *Mycobacterium bovis* in calves vaccinated with a low dose of BCG Vaccine. 1995; 13: 1123-1130.

40. Cancela MMG, Marin JFG. Comparison of Zıehl-Neelsen staining and immunohistochemistry for the detection of *Mycobacterium bovis* and bovine and caprine tuberculosis leions. J. Comp. Path. 1993; 109 (4): 361-370.

41. Carter GR, Wise DJ. Essentials of veterinary bacteriology and mycology, Iowa state Pres, Ames, Iowa, USA. 2004:43-45.

42. Cassidy JP. The pathogenesis and pathology of bovine tuberculosis with insights from studies of tuberculosis in humans and laboratory animal models. Vet Microbiol. 2006; 112: 151-161.

43. Chiacchio T, Casetti R, Butero O, Vanini V, Carrara S, Girardi E, Di Mitri D, Battistini L, Martini F, Borsellino G, Goletti G.Characterization of regulatory T cell s identified as CD+4 CD25 high CD30+ in patientswith active tuberculosis. Clinical and Experimental Immunology. 2009; 156: 463-470.

44. Cleaveland S, Shaw DJ, Mfinanga SG, Shirima G, Kazwala RR, Eblate E, Sharp M. *Mycobacterium bovis* in rural Tanzania risk factors for infection in human and cattle populations. Tuberculosis. 2007; 87:30-43.

45. Co Do, Hogan LH, Kim SI, Sandor M. Mycobacterial granulomas; keys to long lasting host-patogen relationship. Clin. Immunol. 2004; 113: 130-136.

46. Colditz GA, Brewer TF, Berkley CS, Wilson ME ve ark. Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis. JAM. 1994; 271 (9): 698-702.

47. Collins CH. The bovine tuberculosis. Br J Biomed Sci. 2000; 57: 234-40.

48. Collins JD. Tubeculosis in animals. In: J.Med. Sci.1985; 154:15-23.

49. Cosivi O, Grange JM, Daborn, CJ, Reviglione MM, Fujikura T, Cousins D. et al. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. Emerging Infectious Diseases. 1998; 4 (1) : 59–70.

50. Costella E, Doherty ML, Monaghan ML, Quigley FC, O'Reilly PF. A study of cattle – to cattle transmission of *Mycobacterium bovis* infection. Vet. J. 1998; 155:245-250.

51. Cousins DV. Francis BR, Casey R, Mayberey C.*Mycobacterium bovis* infection in a goat. Australian Vet J.1993; 70 (7): 262-263.

52. Cousins DV. Mycobacterium bovis infection and control in domestic livesthock. Rev SCI. Tech. 2001; 20:71-85.

53. Crawshaw T, Daniel R, Clifton-Hadley R, Clark J, Evans H, Rolfe S, de la Rua-Domench R. TB in goats caused by *mycobacterium bovis*. Vet. Rec.2008; 163:127.

54. Crofton J. Tuberculosis. İn: Proper Koch, Post Koch(Ed). A Global Review, IVATILD News. 1994;12: 2-7.

55. Çataloluk O, Karslıgil T, Bayazıt N. Evaluation of polymerase chain reaction amplification method for *Mycobacterium tuberculosis complex* on samples from different sources. Scand J Infect Dis. 2003; 35: 329-331.

56. Çelik Ü, Kocabaş E. Tüberküloz tanısında yeni bir yöntem: İnterferon- gama araştırmasına dayanan testler. Tüberküloz ve Toraks Dergisi. 2007; 55 (1): 108-177.

57. Daniel TM, Debanne SM. The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial disease by enzyme-linked immoserbent assay. AM. Rev. Respir. Dis. 1987; 135: 1137.

58. Daniel TM. Captain of Death: The Story of Tuberculosis. New York, University of Rochester Pres. 1997.

59. Dannenberg AM. Delayed type hypersensitivity and cell mediated in the pathogenesis of tuberculosis. Immunol Today.1991; 12: 228-33.

60. Dannenberg AM. Immunopathogenesis of pulmonary tuberculosis. Hosp Prac. Hospital Practice. 1993; 15: 51-58.

61. DEFRA. Department of enviromet,food and rural affairs.Page last modified: 29 October 2007.http://www.defra.gov.uk/animalh/tb/stats/expenditre.htm.

62. DEFRA,Bovine tb. eradication for England. July,2011.http// www.defra.gov.uk/publications

63. De Lisle GW, Bengis RG, Kriek NPJ, Michel A, Keet DF, Raath JP, Huchzermeyer HFKA. The epidemiology of tuberculosisin free-ranging African buffalo (Syncerus caffer) in the Kruger National Park, South Africa. Onderstepoort J.Vet. Res. 2001; 68: 119-130.

64. Dhama K, Mahendran M, Tiwari R, Singh SD, Kumar D, Singh S, Sawant PM. Tuberculosis in birds: Insights into the Mycobacterium avium infections. Vet. Med. Int. 2011;1-14.

65. Diker F. Bursa yöresinde çeşitli ırk sığırlarda görülen tüberküloz lezyonlarının organlara dağılışı ve histolojik yapıları. Pendik Hayv Has. Mer. Araş. Ens. Der. 1989; (2): 78-94.

66. Edington J. Tuberculosis in a South Canterbury goat Flock. Surveillance Wellington. 1989; 16(1):22-23.

67. Edwards D, Kırkpatrich H. The immunology of mycobacterial diseas. Am Rev Respir Dis.1986; 134: 1062-1071.

68. Enríquez-Cruz C, N.I. Cruz-Hernández NI, Zertuche-Rodríguez JL, Uriegas-García JL, Toscano-Ruiz JE, Flores-Gutiérrez GH. Epidemiology of bovine tuberculosis in Mexico, bordering the United States, at establishment of controlling strategies. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2010; 62:5.

69. Eregat S,et al. Rapid differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* and *M.bovis* by high-resolution melt curve analysis. J.Clin. Microbiol. 2010; 48: 4269-4272.

70. Erer H, Ateş M, Kıran MM, Çiftçi MK, Kaya O. İneklerde Mastitislerin Patolojik ve Bakteriyolojik İncelenmesi. Vet. Bil. Derg. 1996; 12 (1): 123-133.

71. Erganiş O, İstanbulluoğlu E. Aşırı duyarlılık reaksiyonları. Immunoloji.2 baskı. Konya, Sağlık Eğitim Enstitüsü Yayınları. 1994; 95-106.

72. Eroğlu C. Tüberküloz tanısında PCR. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu Kitabı. Samsun 2003; 311-316.

73. Ersöz G. Örneklerin işlenmesi ve kültür yöntemleri. Tüberküloz Tanı Yöntemleri Uygulamalı Kursu Kitabı. Diyarbakır, 3-5 Kasım 2006: 22-26.

74. Evans JT, Smith EG, Dale J, Innes JA, Hunt D, Tweddell A, Wood A, Anderson C, Hewinson RG, Smith NH, Hawkwy PM, Sonnenberg P. Cluster of human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*: evidence for person-to-person transmission in the UK. Lancet. 2007; 369: 1270-76.

75. Fairbairn IP. Macrophage apoptosis in host immunity to mycobacterial infections. Biochem Soc Trans. 2004; 32: 496-498.

76. Farrington CP, Kanaan MN, Gay NJ. Estimation of the basic reproduction number for infectious diseases from age-stratified serological survey data. Appl Stat. 2001; 112: 119-126.

77. Fedoseev VS, RubtsovaI N, Kirilenko NG, Baigazanov AN, Musin AZ. L-transformation of mycobacteria. Veterinariya, Moscow, USSR . 1985: (12): 30-32

78. Feng CF, Demangel C, Kamath AT, Macdonald M, BrittonWJ. Dendtric cells infected with *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette Guarin activate CD8T cells with specifivity for a novel mycobacterial epitope. International Immunology. 2001; 13 (4): 451-458.

79. Ferguson JS, Gaynor CD, Schlesinger LS. Mononuclear phagocytes in tuberculosis patogenesis. Cur. Op. Inf. Dis.1997; 10: 190-195.

80. Firdessa R, Tschopp R, Wubete A, Sombo M, Hailu E, Erenso G, Kiros T, Yamuah L, Vordermeier M, Hewinson RG, Young D, Gordon SV, Sahile M. High prevalance of bovine tuberculosis in dairy cattle in central Ethiopia: Implications for the dairy industry and public health. Plos One. 2012; 7(1):12.

81. Flynn JL, Goldstein MM, Triebold KJ, Koller B, Bloom BR. Major histocompatibility complex class I-restricted T cells are required for resistance to *Mycobacterium tuberulosis* infection. Proc Natl Acad Sci USA.1992; 89 (24): 12013-12017.

82. Fritsche A, Engel R, Buhl D,Zellweger JP. *Mycobacterium bovis* tuberculosis: from animal to man and back. Int J Tuberc Lung Dis. 2004;8: 903-904.

83. Fulton RM, Thoen C. Tuberculosis. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM (Ed). Diseases of Poultry. Iowa State University Pres. 2003; 836-844.

84. Fulton SA, Martin TD, Redline RW, BoomWH. Pulmonary immune responses during primary *Mycobacterium bovis*- Calmette-Guarin bacillus infection in C57B/6 mice. Am. J.Respir. Cell Mol. Biol.2000; 22: 333-343.

85. Gebreyohannes TK. Low dose BCG vaccination in mice: Immune responses and implications for tuberculosis control. Doktora Tezi. Department of Microbiology and Immunology University of Saskatchewa, Saskatoon. 2007.

86. Gemicioğlu B.Erişkinlerde tüberküloz kliniği ve tanısı. İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri; Erişkin ve Çocukta Tüberküloz Sempozyumu. İstanbul, 1999; 21-37.

87. Gilbert M. Cattle movements and bovine tuberculosis in Great Britain. Nature 2005; 435: 491–496.

88. Glatman-Freedman A, Casadevall A. Serum therapy for tuberculosis revisited: Reappraisal of the rol of antibody-mediated immunity against *Mycobacterium tuberculosis*. Clin Microbiol Rev. 1998; 11: 514-532.

89. Goel MM, Budhwar P. Immunohistochemical localization of mycobacterium tuberculosis complex antigen with antibody to 38 kDa antigen versus Ziehl Neelsen staining in tissue granulomas of extrapulmonary tuberculosis. Indian J Tuberc.2007; 54: 4-29.

90. Good M. Bovine tuberculosis eradication in Ireland. Irish Veterinary Journal 2006;59: 154-162.

91. Grange JM, Yates MD. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* infection. Vet. Microbiol. 1994; 40 (1-2): 137-151.

92. Griffin JM, Martin SW, Thorburn MA, Evers JA, Hammond RF. A case-control study on the association of selected risk factors with the occurrence of bovine tuberculosis in the Republic of Ireland. Prev. Vet. Med. 1996; 27: 75-87.

93. Griffith A.S., Munro W.T. (1944) Human pulmonary tuberculosis of bovine origin in Great Britain. *The Journal of Hygiene* 43:229-240.

94. Gupta Vk, Ram GC. Fractionation and immunoreactivity of membrane associated proteins of *M.bovis*. Ind. J. Anım. Sci. 2000; 70: 1015-1020.

95. Gutierrez M, Marin JFG. *Cryptococcus neoformans* and *Mycobacterium bovis* causing granulomatous pneumonia in a goat. Vet. Pathol, 1999;60 (3):30-315.

96. Gümüşsoy KS, Atasever A, Aydın F, et al. Prevalence of tuberculosis in cattle in Turkey. Medycyna Wet.2007; 63(3):305-308.

97. Haddad N, Masselot M, Durand B. Molecular diffrentiation of Mycobacterium isolates. Review of main techniques and applications. Res. Vet. Sci.2004; 76 (1): 1-18.

98. Hadley RSC, Wilesmith JW. Tuberculosis in deer a rewiev. Vet. Rec.1991; 129: 5-12.

99. Hazıroğlu R, Milli ÜH. Veteriner Patoloji. Tamer Matbaacılık, 1.Baskı, Ankara,1997; 161-162

100. Hope JC, Villarreal-Ramos B. Bovine TB and the development of new vaccines. Comparative Immunology, Microbiology and Infection Diseases. 2007; (E oub ahead of print).

101. Hope JC, Ramos BV Bovine. TB and the development of new vaccines. Comparative Immunology, Microbiology& Infectious Diseases. 2008; 31: 77-100.

102. Hsieh YC, Tsai KY, Wang CY, Hung CN, Tsai SS, Liv HJ. Diagnosis of avian tuberculosis in Swinhoe's pheasants. Using conventional and molecular based techniques. Avian Dis. 2009; 53: 629-33.

103. Hughes D. Exploting genomics, genetics and chemistry to combact antibiotic resistance. Nat. Rev. Genet. 2003; 4 (6): 432-441.

104. Hussain T. Leprosy and tuberculosis: an insight-review. Crit Rew Microbiol. 2007; 33 (1): 15-66.

105. Inangolet FO, Demelash B, Olaya J, Opuda-Asibo J, Skjeve E. A cross-sectional study of bovine tuberculosis in the transhumant and agro-pastoral cattle herds in the borde rareas of Katakwi and Morata districts, Uganda. Trop. Anim. Health Prod. 2008; 40:501-508.

106. Innes JRM: The Pathogenesis of Tuberculosis in Animals according to the Nieberle School. Vet. Rec.1937; 49: 783-797.

107. İsmail R. Tederrünle Mücadele Baytari Mecmua. 1929;7.129-142

108. Jalava K, Jones JA, Goodchild T, et al. No increase in human cases of Mycobacterium bovis disease despite resurgence of infections in cattle in the United Kingdom. Epidemiol Infect 2007; 135: 40-45.

109. Jaros P, Cogger N, French NA. Systematic rewiew of the human disease evidence associated with the consumption of raw milk and raw milk cheeses. Massey University 2008;92:5.

110. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. Pathology of domestic animals. London. Academic Pres.1985;2.

111. Karahan ZC, Akar N. Tüberküloza Genel Yatkınlık. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2002; 55 (2): 151-162.

112. Kazwala RR, Kambarage DM, Daborn CJ, Nyange J, Jiwa SFH, Sharp JM. Risk factors associated with the occurrence of bovine tuberculosis in cattle in the Southern Highlands of Tanzania. Vet. Res. Commun. 2001; 25-609-614.

113. Keating LA, Wheeler PR, Mansoor H et all. The pyruvate requirement of some members of the *Mycobacterium tuberculosis complex* is due to an inactive pyruvate kinase: implications for in vivo growth. Mol Microbiol. 2005; 56 (1): 163-74.

114. Kıyan M. Mycobacteriaceae, s: 419-57. İn: Cengiz AT, Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara. Güneş Kitabevi. 1999.

115. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Mycobacteria. Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology. 5th ed. Philadelphia. JB. Lippicott Company. 1997: 703.

116. Koneman EW, Winn WC, Allen SD, Janda WM, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods Gl. Mycobacteria. In: Koneman EW (ed). In Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology.8th. Philadelphia, NewYork, Ed Lippicott William &Wilkins Publishers,; 2006; 1064-1124.

117. Köksal F. Tüberküloz basilinin kaynak ve evrimi. Tüberküloz Sempozyumu Kitapçığı. 34-47.2003. Malatya

118. Köksal F, Yaman A. Farklı bir bakteri topluluğu mikobakterilerde hücre duvar yapısı. 21. Yüzyılda tüberküloz sempozyumu. 34-47.2003. Samsun.

119. Kurutepe M. Çoğul ilaca dirençli tüberküloz hastalarında BACTEC ve ağır proporsiyon yöntemler ile saptanan etionamid direncinin klinik önemi. Doktore Tezi: 2006.

120. Lari N, Rindi L, Bonanni D, Tortoli E, Garzelli C. Molecular analysis of clinical isolates of *Mycobacterium bovis* recovered from humans in Italy. J Clin Microbiol. 2006 Nov; 44 (11):4218-21.

121. Laval G, Ameni G. Prevalence of bovine tuberculosis in zebu cattle under traditional animal husbandry in Boji District of western Ethiopia. Rev. Med. Vet. 2004; 155: 494-499.

122. Lazarevic V, Flynn J. CD8+T cells in tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med. 2002; 166: 1116-1121.

123. Lauzi S, Pasotto D, Amadori M, Archetti IL, Poli G, Bonizzi L. Evaluation of the specificity of the gamma-interferon test in Italian bovine tuberculosis ppf for testing cattle. 3 National trial in Great Britain. Veterinary Record. 2000; 160:17-24.

124. Lennox AM. Mycobacteriosis in companion psittacine birds. A review. J Avian Med. Surg. 2007; 21: 181-187.

125. Li Y, Trush MA. Reactive O_2 depent DNA damage resulting from the oxidation of phenolic compounds by a copper-redox cycle mechanism. Cancer Res.1994; 54: 1895s-1898s.

126. Lilenbaum W, Riberio ER, Souza GN, Moreira EC, Fonseca LS, Ferreira MAS, Schettini J. Evaluation of an ELISA-PPD for diagnosii of bovine tuberculosis in field trials in Brazil. Research in Veterinary Science. 1999; 66: 191-195.

127. Lucas J, Lucas A, Furber H, James G, Hughes MS, Martin P, Chen SCA, Mıtchell DH, Love DN, Malık R. Mycobacterium genavense infection in two aged ferrets with conjunctival lesions. Aust Vet. J. 2000; 78: 685-689.

128. Luke D. Tuberculosis in the horse, pig, sheep and goat.Vet.Rec. 1958; 70 (26): 529-536.

129. Luna LG. Manuel of Histologic Staining Methods of Armed Forces Institue of Pathplogy. Mc Graw- Hill Book Company, 3 rd ed, New York, 1968.

130. Luo D. Immunohistochemical demonstration of mycobacterial antigen. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi. 1990; 13(6): 360-2, 381-2

131. MacMicking JD, North RJ, LaCourse r, Mudgett JS, Shah SK, Nathan CF. Identification of nitric oxide synthase as a protective locus against tuberculosis. Proc Natl Acd Sci USA. 1997; 94: 5243-5248.

132. Marion G, Smith L, Swain DL, Davidson R, Hutchings MR. Understanding the impact of foraging behaviour on disease risks from faeces in spatially heterogeneous systems. J. Agric. Sci. 2008; 146:507–520.

133. Mathews F, McDonald DW, Taylor GM, Gellin M, Norman RA, Honess PE et al. Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in British farmland wildlife: the importance to agriculture. Proc. R. Soc. B. 2006;273:357–365.

134. Matlova L, Dvorska L, Ayele W, Bartos M, Anemori T, Pavlik I. Distribution of *Mycobacterium avium* complex isolates in tissue samples of pgs fed peat naturally contaminated with mycobactera as a supplement. J Clin. Microbiol.2005; 43:1261-1268.

135. McGavin MD and Zachary J F. Pathologic Basis of Veterinary Disease., 4th ed, Mosby Press, 2006

136. McKay WM. A clinical study of bovine tuberculosis in Banffshire. The pathological lesions, part1. Br Vet J. 1958; 114: 324-329.

137. McKay WM. A clinical study of bovine tuberculosis in Banffshire. The pathological lesions, part2. Br Vet J. 1959; 115: 370-377.

138. Mcllroy SG, Neill SD, McCracken RM. Pulmonary lesions and *Mycobacterium bovis* excretion from the respiratory tract of tuberculin reacting cattle. Vet. Rec. 1986; 118: 718-721.

139. Mclaughlın AR, Moyle AI. An epizootic of bovine tuberculosis, JAVMA. 1974; 164: 396-397.

140. Menzies FD, Neill SD. Cattle to transmission of bovine tuberculosis. Vet. J.2000; 160 (2): 92-106.

141. Messelhausser U, Kampf P, Hormansdorfer S, Wagner B, Schalch B, Busch U, Holler C, Wallner P, Barth G Rampp A. Culture and molecular method for detection of *Mycobecterium tuberculosis complex* and *M.avium subsp. paratuberculosis* in milk and dairy products. Appl. Environ. Microbiol. 2012 January; 78 (1):295-297.

142. Metchock BG, Nolter FS, Wallace RJ, Murrary PR, Baron EJ, Ppaller MA, Tenover FC, Yelken RH (eds). Manual of clinical Microbiology, Washington. ASM. 1999;399.

143. Meyer JP, Persad R ve Gillatt DA. Use of Bacille Calmette-Guerin in superficial bladder cancer. Postgrad Med J. 2002; 78: 449-454.

144. Mısırlıgil Z. In: Tüberküloz immunolojisi. Kocabaş A (Ed)Tüberküloz kliniği ve kontrolü.Çukurova Üniversitesi Basımevi, Adana. 1991: 73-78.

145. Michel AL, Muller B,VanHelden PD. *Mycobacterium bovis* at the animal-humaninterface: A problem, or not? Veterinary Microbiology. 2010; 140: 371-381.

146. Mignard S, Pichat C, Carret G. *Mycobacterium bovis* Infection, Lyon, France. Emerg Infect Dis. 2006 September; 12(9): 1431–1433.

147. Milian -Suazo F, Salman MD, Ramirez C. Identification of tuberculosis in cattle slaughtered in Mexico. Am. J. Vet. Res. 2000; 61: 86-89.

148. Mukherjee A, Kalra N, Beena KR. Immuno-hıstochemical detection of mycobacterial antigen in tuberculosus lymphadenitis. Indıan J Tuberc. 2002; 49:213-216.

149. Morcillo N. Tuberculosis in children. In: Palomino JC, Leao SC, Ritacco V (eds). Tuberculosis. From basic science to patient care. 1 th edition. 2007; 525-558.

150. Morrison WI, Bourne FJ, Cox DR, Donnell CA, Getinby G, Mcinerney JB, Woodroffe R. Pathogenesis and diagnosis of infection with *mycobacterium bovis* in cattle. Vet. Rec.2000; 146: 236-242.

151. Mposhy M, Binemo-Madi C, Mudakikwa B. Incidence of bovine tuberculosis and its relation to the health of the population of North Kivu (Zaire). Rev Elev Med Vet Pays Trop. 1983; 36(1):15-8.

152. Mukherje A, Karla N, Beeana KR. Immunohistochemical detection of mycobacterial antigen in tuberculosis lymphadenitis. Ind. J. Tub. 2002; 49-213.

153. Munyeme M, Muma JB, Samuii KL, Skjeve E, Nambota AM, Phiri IGK et al. Prevalance of bovine tuberculosis and animal level risk factors for indigenous cattle under different grazing strategies in the livestock/wildlife interface areas of Zambia. Trop. Anim. Helath Prod. 2008b; 41-345-352.

154. Mustafa AS, Skeiky YA, Al-Attiyah R, Alderson MR, Hewinson RG, Vordermeier HM. Immunogenicity of Mycobacterium tuberculosis antigens in Mycobacterium bovis BCG-vaccinated and M. bovis-ınfected cattle. Infection and Immunity. 2006; 74: 4566-4572.

155. Neill SD, O'Brien JJ, McCracken RM. *Mycobacterium bovis* n the anterior respiratory tracts in the heads of tuberculin-reacting cattle. Vet Rec. 1988; 122: 184-186.

156. Neill SD, Bryson DG, Pollock JM, Elner JJ, Brennan PJ, Young D. Pathogenesis of tuberculosis in cattle. Tuberculosis.2001; 81: 79-86.

157. Niemann S, Harmsen D, Rüsch-Gerdes S, Richter E. Differentiation of clinical Mycobacterium tuberculosis complex isolates by gyrB DNA sequence polymorphism analysis. Journal of Clinical Microbiology. 2000; 38: 3231-3234.

158. Nikiforuk A. Mahşerin Dördüncü Atlası. İstanbul, İletişim Yayınları, 2000: 49-66.

159. Norton S, Corner LAL, Morris RS. Ranging behaviour and duration of survival of wild brushtoil possums(Trichosurus vulpecula) infected with *Mycobacterium bovis*. N.Z. Vet. J. 2005; 53: 293-300.

160. Oğuz D. 5–15 Ay Arası sağlıklı Çocuklarda BCG Aşısının Tüberkülin Deri Testine Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. 2004.

161. OIE. Manual of Diagnostic Test and vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.3.3. Bovine tuberculosis,2004.

http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a-00054.htm

162. OIE. Bovine tuberculosis. Terresial Manual. 2008. Chapter 2.4.7, p:683-694. (a)

163. OIE. Presribed and alternative diagnostic test for OIE listed disease. Terrestrial Animal Health Code. 2008. Chapter 1,3, p: 1-5. (b)

164. OIE. Animal Health Information World Animal Health Information Database,2009.

http://www.oie.int/wahis/public.php

165. Olea-Popelka FJ, White PW, Collins JD, O'Keeffer J, Kelton DF, Martin SW. Breakdown severity during a bovine tuberulosis episode as a predictor of future herd outbreaks in Ireland. Prev. Med.2004; 63:163-172.

166. Oliveira BFT, Takay FC, Shida TM, Santo RM, Souza AC, Matayoshi S. Orbital tuberculosis diagnosed by immunohistochemistry: Case Reports.Rev. Inst Med Trop S Paulo. 2004; 46 (5)291-294

167. Oloyo J, Opuda-Asibo J, Djonne B,Muma J,Matope G,Kazwala R,Skjerve E. Responses to tuberculin among zebu cattle in the transhumance regions of Karamoja and Nakasongola district of Uganda. Tropical Animal Health and Production; 2006: 38 275-283.

168. O'Reilly LM, Daborn CJ. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. Tuber Lung Dis. 1995; 76: 1–46.

169. Ortatatlı M, Çiftçi MK, Tuzcu M. Sığırlarda tüberküloz ve diğer granülamatöz pnömoniler üzerinde patolojik incelemeler. Vet. Bil. Derg. 1998; 14 (2): 139-150.

170. Özbal Y. Tüberküloz İmmunolojisi. Erciyes Tıp Dergisi. 2006; 28 (1): 25-34.

171. Özbey G, Kalender H, Muz A. Sığır Tüberkülozunun Epidemiyolojisi ve Teşhisi. 2008; 22 (5): 307–314.

172. Özerol Hİ. Tüberkülozun serolojik tanısı. 21. yüzyolda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemler Kursu. 2003. Samsun

173. Özerol Hİ. Yeni tüberküloz aşıları. IV tüberküloz laboratuvarı tanı yöntemleri uygulamalı kursu. 104,-144. 9-11 Aralık 2005; Malatya.

174. Palmer MV, Waters WR. Advances in bovine tuberculosis diagnosis and pathogenesis: What policy makers need to know. Vet Microbiol. 2006; 112:181-190.

175. Pereira SM, Dantas OMS, Ximednes R, Barreto ML. BCG vaccine against tuberculosis: It's protective effect and vaccination policies. Rev Saude Publica. 2007; 41 (1): 59-66.

176. Pollock JM, MacNair J, Welsh MD, Girvin RM, Kennedy HE, Mackie DP, Neill SD. Immune response in bovine tuberculosis. Tuberculosis. 2001; 81: 103-107.

177. Pollock EB, Conlan AJK, Mitchell AP, Blackwell R, McKinley TJ, Wood JLN. Age-dependent patterns of tuberculosis in cattle. Veterinary Research. 2012;44:97.

178. Porphyre T, Stevenson MA, McKenzie J. Risk factors for bovine tuberculosis in New Zealand cattle farms and their relationship with possum control strategies. Prev. Med.2008; 86: 93-106.

179. Prescott LM, Harley JP, Klein DA et al. Bacteria: The high G+ C gram posititives. In: Prescott LM, Harley JP, Klein DA (eds). Microbiology. Mc Graw Hill. 1999; 506.

180. Pritchard DG. A century of bovine tuberculosis 1888-1988: conquest and controversy. J Comp. Pathol. 1988; 99(4):357–399.

181. Ramirez-Villaescusa AM, Medley GF, Mason S, Green LE. Hard and individual animal risks associated with bovine tuberculosis skin test positivity in cattle in herds in south west England. Prev. Met. Med 2009.92:188-198.

182. Raja A. Immunology of tuberculosis. Indian J Med. Res. 2004; 120: 213-222.

183. Reichman LB, Hershfield ES. Pathogenesisof tuberculosis. Tuberculosis. Second Edition. Basel, Marcel Dekker. 2000; 241-260.

184. Reilly LA, Courtenay O. Husbandary practises, badger sett desity and habitat composition as risk factors for transient and pesistent bovine tuberculosis on UK cattle farms. Prev. Vet. Med. 2007; 80: 129-142.

185. Resmi Gazete. Sığır Bovine Tüberkülozu Yönetmeliği.2009.Sayı:27188.

186. Riacco V, de Kantor IN. Zoonotic tuberculosis in Latin Amerika. J.Clin. Microbiol. 1992; 30:3299-3300.

187. Ribeiro HFL, Rolim Filho ST, Barbosa EM, Pereira RM, Picanco NS, Nunes KB, Vale WG, Pereira WLA. Testicular and Epididymis Tuberulosis in Buffaloes Managed Extensively in Amapa State, Brazil. The Journal of Animal Plant Sciences. 2012; 22 (3) :153-156 ISSN:1018-7081.

188. Ridley MJ, Marianayagam Y, Spector WG. Experimental granulomas induced by mycobacterial immune complexes in rats.J Pathol.1982 Jan;136 (1): 59–72

189. Ritz M, Hanekom WA, Robins- Browne R, Britton WJ, Curtis N. Influence of BCG vaccine strain on the immune response and protection against tuberulosis. FEMS Microbiol Rev. 2008; 32 (5): 821-41.

190. Rockett KA, Brookes R, Udalova I, Vidal V, Hill AV, Kwiatkowski D. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 induces nitric oxide synthase and suppresses growth of Mycobacterium tuberculosis in a human macrophage-like cell line. Infect Immun. 1998; 66: 5314-5321.

191. Rodwell TC, Moore M, Moser KS, Brodine SK, Strathdee SA. Tuberculosis from Mycobacterium bovis in binational communities, United States. Emerg Infect Dis. 2008 Jun;14(6):909-16.

192. Rom WN, Gray Sm. Tuberculosis . 2th edition. Philadelphia. 2004; 21:285-299.

193. Romero B, Aranaz A, de Juan L et all. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* isolates with the same spoligotyping profile as isolates from animals. J. Clin. Microbiol 2006; 44 (9): 3405-8.

194. Rua-Domenecch R, Goodchild AT, Vordermeier HM, Hewinson RG; Christiansen KH, Clifton – Hadley RS. Antemortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A rewiev of the tuberculin tests,γ interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. Research in Veterinaray Science. 2006; 81 (2): 190-210.

195. Runyon EH. Mycobacteria, an overwiev. Rev. Infect. Dis. 3: 819-821. In: Pritchard DG. (1988): A century of bovine tuberculosis 1888-1988: conquest and controversy. J. Comp. Pathol. 1981;99: 357-399.

196. Ryu S, Park YK, Bal GH. 3' UTR polymorphism in the NRAMP 1 gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans. Int J Tuberc Lung Dis. 2000; 4 (6): 577-580.

197. Salfinger M, Morris AJ. The role of microbiology laboratory in diagnosing mycobacterial disease. Am J Clin Pathol 1994; 101 (suppl): 6-13.

198. Sayın Z. Sığır Tüberkülozunun Farklı Metodlar ile karşılaştırılmalı teşhisi. Selçuk Üniversitesi. Doktora Tezi. 2010.

199. Scantlebury M, Hutchings MR, Allcroft DJ, Harris S. Risk of disease from wildlife reservoirs: badgers, cattle, and bovine tuberculosis. J. Dairy Sci. 2004;87:330–339.

200. Scott-Browne JP, Shasiani S, Tucker-Heard G, Ishida-Tsubota K, Fontenot JD, Rudensky AY, Bevan MJ, Urdahl KB. Expansion and function Foxp–3-expressing T regulatory cells during tuberculosis. JEM.2007; 204 (9): 2159-2169.

201. Sevcikova Z, Ledecky V, Capik I, Levkut M. Unusual manifestation of tuberculosis in an ostrich (Strurho camelus). Vet. Rec. 1999; 145: 708.

202. Soler D, Brieva C, Ribon W. Mycobacteriosis in wild birds: the potential risk of disseminating a little-known infectious disease. Rev Salud Publica. 2009; 11: 134-144.

203. Solmaz H, İlhan Z, Aksakal A ve ark. Van Bölgesinde sığır tüberkülozunun polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanması. VI Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslar arası Katılımlı). 26-28 Eylül 2006.Side-Antalya.

204. Stana D. Çoğul ilaca dirençli M.tuberculosis complex suşlarının sekonder ilaçlara duyarlılığının BACTEC ve ağır proporsiyon yöntemleri ile araştırılması. Doktora Tezi.2002:7.

205. Steward GR, Wilkinson KA, Newton SM et all. Effect of Deletion or Overexpression of the 19-Kilodalton Lipoprotein Rv3763 on the Innate Response to *Mycobacterium tuberculosis*. Infect. Immun. 2005; 73: 6831-6837. 48.

206.Teixeira HC, Abramo C, Munk ME. Immunological diagnosis of tuberculosis: problems and strategies for success. J Bras Pneumol. 2007; 33 (3):323-334. 36.

207. Thoen CO. Tuberculosis, in diseases of poultry. In: Calnek BW, (Ed). London, UK. Mosby-Wolfe. 1997; 167-178.

208. Thoen CO**,** Lobue P, and Kantor I. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. Vet. Microbiol. 2006;112 (2-4):339-345.

209. Thoen CO, Steele JH, Gilsdorf MJ. Pathogenesis of Mycobacterium bovis. Mycobacterium bovis ınfection in animals and humans. Second Edition. Iowa, Blackwell. 2006; 4: 18-33.

210. Urman HK. Evcil Hayvanların Özel Patolojik Anatomisi. Cilt I, Ankara, AÜ Basımevi,1983

211. Ünver A, Atabay Hİ, Güneş V, Çitil M, Erdoğan HM. Kars yöresinde sığır tüberkülozunun yaygınlığının PCR ile belirlenmesi. Kafkas Üniv. Vet. Fak Dergi. 2007; 13(1): 27-31.

212. Velayati AA, Farnia P, Boloorsaze MR et al. Mycobacterium bovis infection in the same chidren in the same family: transmission through inhalation. Monaldi Arch Chest Dis 2007;67:169-72.

213.Voldermeler HM. T cell recognition of mycobacterial antigens. Eur. Respir J. 1995; 20: 657-667.

214. Vordermeier HM, Chambers MA, Cockle PJ, Whelan AO, Simmons J, Hewinson G. Correlation of ESAT-6 specific gamma interferon production with pathology in cattle following Mycobacterium bovis BCG vaccination against experimental bovine tuberculosis. Infection and Immunity. 2002; 70: 3026-3032.

215. Vordermeier MR, Hewinson G. Development of cattle TB vaccines in the UK. Veterinary Immunology and Immunopathology. 2006; 112: 38-48.

216. Waters WR, Thacker TC, Greenwald R, Esfandiari J, Lyashchenko KP. Effects of diffrent tuberculin skin-testing regimens on gamma interferon and antibody responses in cattle experimentally infected with Mycobacterium bovis. Clin Vaccine Immunol. 2006;13:387-394).

217. Wei CY, Hsu YH, Chou WJ, Lee CP, Tsa WL. Molecular and histopathologic evidence for systemic infection by Mycobacterium bovis in a patient with tuberculosis enteritis, peritonitis and meningitis: a case report, Kaoshsiung. J Med Sci.2004; 20 (6): 302-7.

218. Whelan AO, Coad M, Peck ZAA,Clifford D, Hewinson RG, Vordermeier HM. Modulation of the bovine delayed-type hypersensitivity responses to defined Mycobacterial antigens by asynthetic bacterial lipopeptide. Infection and Immunity.2003; 71: 6420-6425.

219. Whipple DL, Bolin CA, Miller JM. Distribution of lesions in cattle infected with Mycobacterium bovis. J.Vet. Diagn Invest 1996; 8(3): 351-354.

220. Wilfret C, Hotez P.Tuberculosis. In: Gershon AA, Hotez PJ, Katz SL (ed). Krugman's Infectious Disease of children. 11 th. edition. St. Louis Missouri: Mosby. 2006; 731-762.

221. Willem H, Gelderbloem SJ, Hawkridge A, Hussey G, Sheperd R, Workman L, Soler J, Ress SR, Kaplan G. Dose-dependent immune response to Mycobacterium bovis BCG vaccination in neonates virginia davids. Clinical and Vaccine Immunology. 2007; 14: 198-200.

222. Wilsher ML, Rezies RE, Croxson MC. Mycobacterium tuberculosis DNA in tissues affected by sarcoidosis. Thorax. 1998; 53: 871-874.

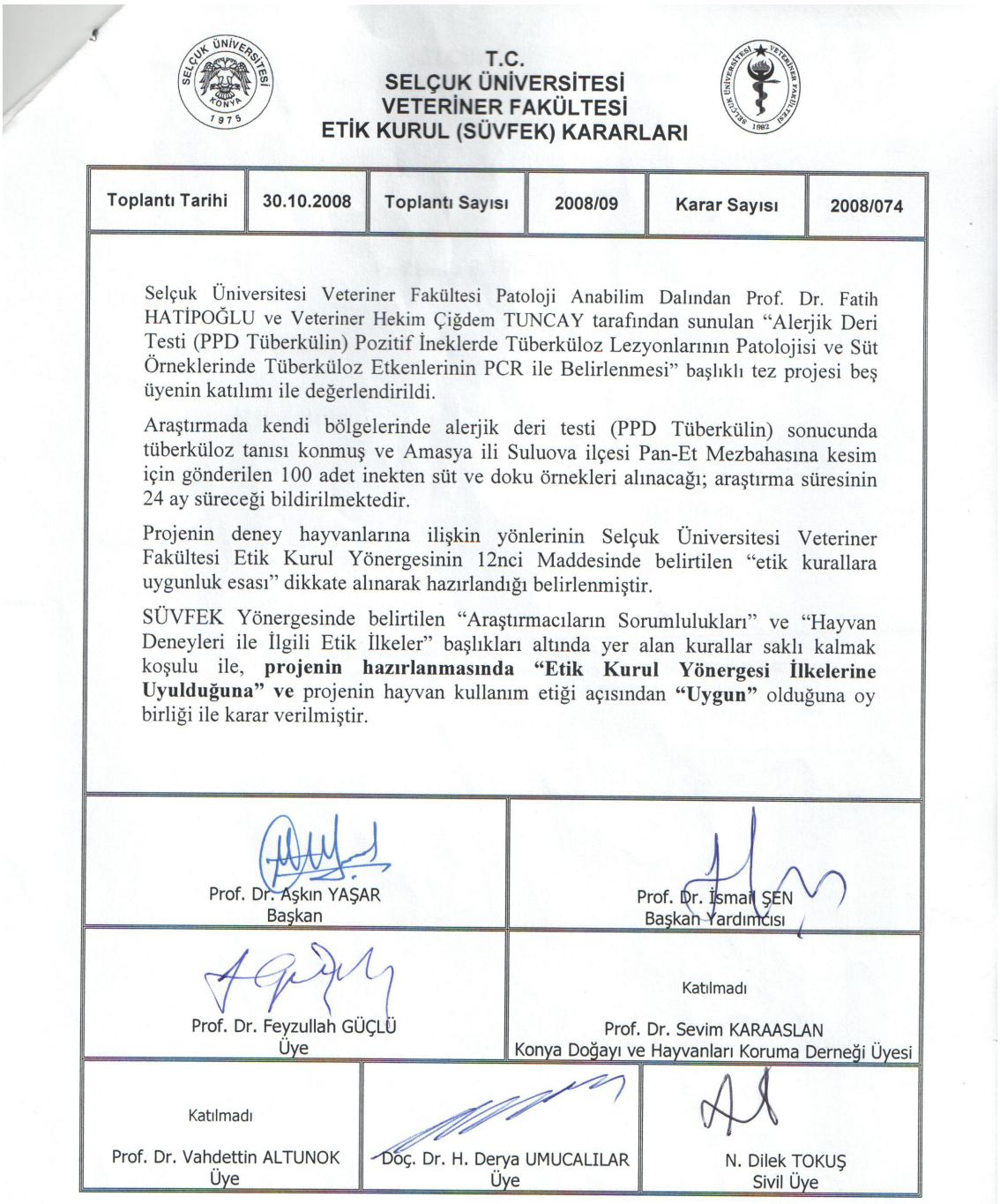
223. Wood PR, Rotthel JS. In vitro immono diagnostic assay for bovine tuberculosis. Veterinary Microbiology. 1994; 40: 125–135.

224. Yardımcı H. Mycobacterium enfeksiyonları. In: Aydın N ve Paracıkoğlu J (Eds). Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). I. Baskı. Ankara. İlke-Emek Matbacılık ve Yayıncılık. 2006; 87–107.

225. Yearsley D, Egan J, Costello E, O'Reilly P, Hewinson RG. An evaluation an anamnestic ELISA fort pense he detection of tuberculosis cattle. Irish Veterinary Journal. 1998; 51: 303-306.

226. Zeytinli Ü. Çukurova bölgesinde akciğer tüberkülozlu hastalardan izole edilen Mycobacterium suşlarının spolygotyping ve MIRU-VNTR Yöntemiyle Tiplendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Adana. 2010.

9.EKLER



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ
ETİK KURUL (SÜVFEK) KARARLARI

Toplantı Tarihi	30.10.2008	Toplantı Sayısı	2008/09	Karar Sayısı	2008/074

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalından Prof. Dr. Fatih HATİPOĞLU ve Veteriner Hekim Çiğdem TUNCAY tarafından sunulan "Alerjik Deri Testi (PPD Tüberkülin) Pozitif İneklerde Tüberküloz Lezyonlarının Patolojisi ve Süt Örneklerinde Tüberküloz Etkenlerinin PCR ile Belirlenmesi" başlıklı tez projesi beş üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Araştırmada kendi bölgelerinde alerjik deri testi (PPD Tüberkülin) sonucunda tüberküloz tanısı konmuş ve Amasya ili Suluova ilçesi Pan-Et Mezbahasına kesim için gönderilen 100 adet inekten süt ve doku örnekleri alınacağı; araştırma süresinin 24 ay süreceği bildirilmektedir.

Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Yönergesinin 12nci Maddesinde belirtilen "etik kurallara uygunluk esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir.

SÜVFEK Yönergesinde belirtilen "Araştırmacıların Sorumlulukları" ve "Hayvan Deneyleri ile İlgili Etik İlkeler" başlıkları altında yer alan kurallar saklı kalmak koşulu ile, **projenin hazırlanmasında "Etik Kurul Yönergesi İlkelerine Uyulduğuna" ve** projenin hayvan kullanım etiği açısından **"Uygun"** olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Aşkın YAŞAR Başkan	Prof. Dr. İsmail ŞEN Başkan Yardımcısı
Prof. Dr. Feyzullah GÜÇLÜ Üye	Katılmadı Prof. Dr. Sevim KARAASLAN Konya Doğayı ve Hayvanları Koruma Derneği Üyesi

Katılmadı Prof. Dr. Vahdettin ALTUNOK Üye	Doç. Dr. H. Derya UMUCALILAR Üye	N. Dilek TOKUŞ Sivil Üye

10. ÖZGEÇMİŞ

07.09.1979 yılında Ankara'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kastamonu'da tamamladı. 1998 yılında Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesine yerleştirildi, 2003 yılında mezun oldu. Aynı sene içerisinde Servier İlaç ve Araştırma A.Ş' de medikal delege olarak başladı ve 2 yıl Kastamonu ve Çankırı bölgesinde çalıştı. 2005 yılında S.S Köy Kalkınma ve Diğer Tarımsal Kooperatifler Birliğinde birlik müdürü olarak, aynı zamanda Alman Kooperatifler Birliği'nde hayvancılık uzmanı olarak çalıştı. 2011 yılında görevlerinden ayrılarak Taşköprü İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğünde veteriner hekim olarak atandı ve halen mevcut görevine devam etmektedir.