

# KOYUNLARDA BRUSELLOZA BAĞLI ABORTUSLARDA FÖTAL LEZYONLAR ÜZERİNDE PATOLOJİK VE İMMUNPEROKSİDAZ ÇALIŞMALAR\*

Öznur YAZICIOĞLU\*\*

## Pathological and immunoperoxidase studies on the fetal lesions of ovine brucellosis.

**Summary:** *In this study, lesions in aborted fetuses were morphologically evaluated in ovine brucellosis. Strept Avidin-biotin peroxidase complex technique was used to detect the presence and localization of brucella antigen in tissue sections. In addition, the relationship between agent and morphologic lesions was searched. Thirty ovine aborted fetuses were examined in field cases.*

*Grossly, aborted fetuses showed subcutaneous edema, serosanguineous body fluids and pneumonia. Histological changes were mainly in the lung, liver and spleen. Fetal pathology in these organs consisted of bronchopneumonia in the lung, periportal cell infiltrations and multifocal hepatic necrosis in the liver and lymphoreticular hyperplasy in the spleen. Other organs had hematogenous dissemination findings of infection.*

*Brucella antigen was detected in all organs examined by immunoperoxidase technique. Intracellular localization was found in macrophages, neutrophils, hepatic and myocardial cells, renal tubular epithelial cells, mesenchymal cells, and endothelial cells of the meningeal vessels. Antigen was observed extracellularly in the exudate, lumen of esophagus, content of intestine, fetal vascular lumens and, interstitium.*

*Key words: Brucellosis, sheep, abortion, fetus, immunoperoxidase*

### Özet:

*Çalışmada, koyunlarda bruselloza bağlı abortus olaylarında atık fötüslerdeki lezyonlar morfolojik olarak değerlendirildi. Doku kesitlerinde antijenin varlığının ve lokalizasyonunun tespiti için Strept Avidin-biotin peroksidaz kompleks tekniği kullanıldı. Ayrıca bakterinin morfolojik lezyonlarla ilişkisi araştırıldı. Bu amaçla saha olaylarından temin edilen 30 atık koyun fötüsü incelendi.*

*Makroskobik olarak, atık fötüslerde subkutan ödem, vücut boşluklarında kanlı bir sıvı ve akciğerlerde pnömoni gözlemlendi. Başlıca histolojik bulgular, akciğer, karaciğer ve dalaktaydı. Akciğerde bronkopnömoni, karaciğerde periportal hücre infiltrasyonları ve fokal nekroz odakları ile dalakta lenforetiküler hiperplazi dikkati çekti. Diğer organlarda, enfeksiyonun hematojen yayılma bulguları mevcuttu.*

*İmmunperoksidaz boyamalarda,; spesifik antijen boyanması, incelenen tüm dokularda saptandı. Brusella antijeni, makrofajlarda, nötrofillerde, hepatositlerde ve kalp kası tellerinde, böbrek tubulus epitellerinde, bağıdoku hücrelerinde ve meningeal damar endotellerinde hücre içinde gözlemlendi. Hücre dışında ise eksudatta, ösefagus lumeninde, bağırsak içeriğinde, fötal damar lumenlerinde ve interstisyumda dikkati çekti.*

*Anahtar kelimeler: Bruselloz, koyun, abortus, fötüs, immunperoksidaz*

\* Bu çalışma, doktora tezinden özetlenmiştir.

\*\* Uzm. Veteriner Hekim Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, İzmir.

## GİRİŞ

Bruselloz, insan ve evcil hayvanlarda (sığır, koyun, keçi, domuz, köpek) Brucella cinsine ait bakteriler tarafından meydana getirilen kronik, bulaşıcı ve zoonoz bir enfeksiyondur. (6,7,18) Brucella cinsindeki etkenler, evcil hayvanlarda abortus, prematüre doğum, infertilite ve süt veriminde azalma gibi önemli ekonomik kayıplara neden olurlar (6, 7) Türkiye’de koyunlarda yavru atmaya neden olan enfeksiyöz etkenler arasında brusellaların üst sıralarda yer aldığı ve ilgili atık olaylarından da etken olarak B. melitensis’in izole edildiği bilinmektedir (8, 19,20,29,32). Koyunlarda B. melitensis’e ilgili maternal lezyonların histolojisi, 1956 yılında Alibaşoğlu (2) ve 1963 yılında Baran (10) tarafından incelenmiştir. Ancak bugüne kadar bruselloza ilgili atık olaylarında, koyun fötüslerindeki bruselloza ilgili atık olaylarının genellikle bakteriyolojik ve serolojik olarak incelendiği (3,9,11,21,23,31), fetal lezyonların patolojisine yönelik çalışmaların (15,21,28) ise çok az olduğu görülmektedir.

Bu çalışmalarda, koyunlarda bruselloza bağlı abortus olaylarında, atık fötüslerdeki lezyonların morfolojik olarak değerlendirilmesi ve immünperoksidaz tekniği kullanılarak doku kesitlerinde etkenin varlığının tespiti ve lokalizasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

**Patolojik Çalışmalar:** Çalışmanın materyalini, 1993 ve 1994 yılı doğum mevsimlerinde Ankara İli ve çevre illerde oluşan abortus olaylarından elde edilen ve bakteriyolojik olarak Brusella spp.’nin izole edildiği 30 atık fötüs oluşturdu. Histolojik incelemeye alınan fetal organlar, tüm fötüslerde akciğer, karaciğer, dalak, kalp ve böbreği kapsadı. Ayrıca 13 fötüste bronşial

lenf düğümü, ösefagus, timus ve ince bağırsak, 5 fötüste göbek kordonu ve 1’inde de beyin histolojik incelemeye katıldı. Nekropsisi yapılan fötüslerden alınan doku örnekleri, %10’luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom ile 5-6 mikron kalınlığında alınan kesitler, rutin histolojik muayene için Hematoksilen-eozin ile boyandı.

### İmmünperoksidaz Teknik:

#### *Primer antiserum hazırlanması:*

Referens suş olan B. melitensis 16 M liyofilize suşundan brusella süspansiyonu ( $5 \times 10^9$  bakteri/ml) hazırlandı. (Dr. Yavuz Uysal, Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü. Brusella Laboratuvarı, İstanbul). Primer antiserum (primer poliklonal antikor) elde etmek üzere, hazırlanan bu bakteri süspansiyonundan, 3 adet 6 aylık beyaz Yeni Zelanda tavşanlarına, 4.5 hafta süre ile haftada 2 kez olmak üzere kulak venasından artan oranlarda sırasıyla 0.1,0.2,0.3,0.5 ve 5 kez de 1’er ml olarak 9 inokülasyon yapıldı. Son enjeksiyondan 5 gün sonra, tavşanlar uyutulup intrakardial olarak kanları alındı. Serumların aglütinasyon testi ile antikor titreleri (1/160+++ ) belirlendi. Hazırlanan primer antiserum, sadece s koloni formu oluşturan B. melitensis, B. abortus ve B. suis için aglutine edici özellikteydi(12).

#### *Strept Avidin Biotin Peroksidaz Kompleks Tekniğinin Uygulanması:*

Parafin doku kesitlerine, PBS (phosphate buffered saline, Ph 7.4)’de 1/4000 oranında sulandırılan primer antiserum (antikor titresi: 1/160+++ ) kullanılarak, diğer basamaklarda StreptAvidin Biotin Peroksidaz Kompleks tekniği için yurt dışından getirilen hazır kit (Immunon/Shandon=MaxiTags Universal Anti-rabbit Kit, Life Sciences International Ltd, Hampshire, UK) uygulandı.

Antijen boyaması, kit içinde önerilen standart prosedüre göre yapıldı.

Ksilol ve absolut alkol serilerinden geçirilen kesitler, endojen peroksidaz bastırmak için, %0.3'lük (absolut alkolde hazırlanmış) hidrojen peroksitte 30 dakika tutuldu ve sırasıyla normal keçi serumu (Blokaj reagent), primer antiserum, keçi-antitavşan IgG (Biotinlenmiş sekonder antikor) ve Strep Avidin-biotin peroksidaz kompleks solüsyonu ile inkübe edildi. Renklendirici olarak AEC (=3-Amino-9-ethylcarbazolet) kullanıldı. Karşıt boyama, Gill'in Hematoksileni ile yapıldı ve sulu bir yapıştırıcı ile doku kesitleri üzerine lamel kapatıldı. Kontrol amacıyla da kesitler üzerine primer antiserum yerine normal tavşan serumu uygulandı.

#### *Bakteriyolojik Çalışmalar:*

Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Yetiştirme Hastalıkları Laboratuvarında, atık fötüslerin mide içeriği, karaciğer ve dalaklarından Brucella agara (Difco) ve %7 koyun kanlı agara ekimler yapılarak aerobik ve %10 CO<sub>2</sub>'li ortamda 3-5 gün inkübe edildi. Üreyen kültürlerin koloni morfolojisi ve mikroskopik özelliklerine göre izolasyonları yapıldı(4).

### **BULGULAR**

**Makroskopik Bulgular:** Nekropsisi yapılan çoğu fötüste, subkutan ödem, göğüs ve

karın boşluklarında bol miktarda kırmızı renkli bir sıvı görüldü. İç organlarda makroskopik olarak dikkati çeken tek değişiklik akciğerlerdeydi. 23 olguda plöra mat görünüşte olup, akciğerler mor-kırmızı renkte ve sert, et kıvamındaydı. Plöra altında tüm akciğer loblarına serpilmiş halde toplu iğne başı büyüklüğünde ve bazen daha büyük boz-beyaz renkli odaklar gözlemlendi. Bir olguda (28 no'lu) ise karın organları üzerinde beyaz renkli fibrin benzeri bir materyalin bulunduğu görüldü.

### **Mikroskopik ve İmmunperoksidaz Bulgular:**

**Karaciğer-Karaciğerlerde** en sık gözlenen değişiklik, portal bölgelerde yangısal hücre infiltrasyonuydu (Şekil 1). Onsekiz olguda, portal bölgelerde damarlar ve safra kanalları çevresinde, mononükleer hücre infiltrasyonları görüldü. Bunlardan 4 olguda nötrofil lökositlerin ve 4 olguda da eozinofil lökositlerin, mononükleer hücre infiltrasyonuna katıldığı dikkati çekti. Ayrıca 8 olguda, sinusoidlerde de hafif-orta derecede nötrofil lökosit kümelerine rastlandı. Olguların 11'inde, karaciğer parankiminde fokal nekroz odakları mevcuttu(Şekil2) Bir olgudaki (3no'lu) nekroz, tipik koagülasyon nekrozuydu. 2 olguda da parankimde diffuz hidropik dejenerasyon vardı (Tablo 1, 3)

**Tablo 1. Karaciğerlerde Gözlenen Histopatolojik Bulgular**

**Table 1. Histopathologic Findings in the livers.**

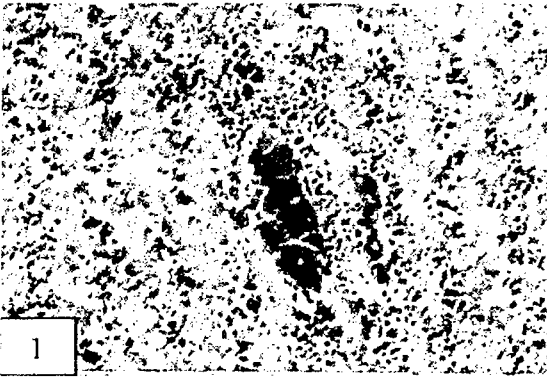
<i>Lezyonlar</i>	<i>Adedi</i>	<i>Fötüs No</i>
Portal hücre infiltrasyonu	18	(1-,9,11,12,15-17,25,26,28,30)
Parankimde nekroz odakları	11	(1-4,6-8,11,15,16,30)
Sinusoidlerde hücre kümeleri	8	(5-7,9,12,20,23,30)
Hidropik dejenerasyon	2	(5,12)

### İmunperoksidaz boyanma-

Karaciğerlerde spesifik antijen boyanması, hücre içinde ve dışında gözlemlendi (Şekil 3) Hücre içinde antijen, 29 olguda hepatositlerde ve Kupfer hücrelerinde ve 23 no'lu olguda ayrıca safra kanalı epitellerinde tespit edildi. Üç olguda (20,23, 24 no'lu) antijenin, hepatosit sitoplazmalarını tamamen doldurduğu ve bu durumdaki hepatositlerde hücre çekirdeğinin ya bir kenara itilmiş konumda olduğu ya da antijen tarafından tümüyle maskelendiği görüldü. Antijen, hücre dışında çoğu olgularda, sinusoidlerde ve portal bölge interstisyumunda saptandı (Tablo 3).

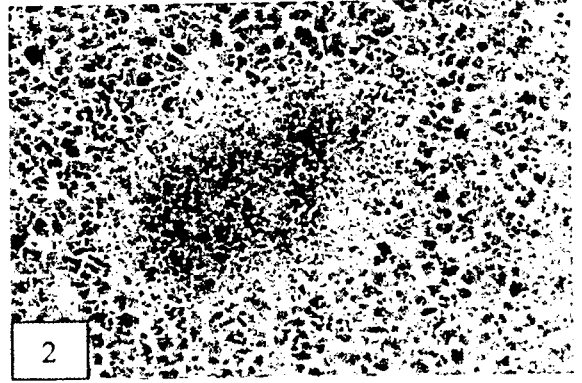
Şekil 1. Karaciğerde portal bölgede yangısel hücre infiltrasyonu. 11 no'lu fötüs. HE x 200.

Figure 1. Inflammatory cell infiltration of a portal tract in liver. Fetus no. 11. HE x 200.



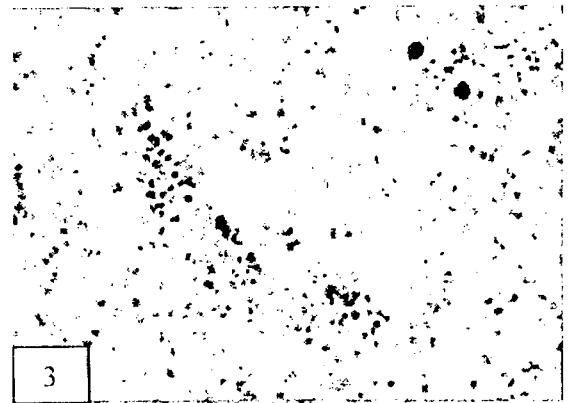
Şekil 2. Karaciğerde fokal nekroz odağı 6. No'lu fötüs. HE x 100.

Figure 2. Focal necrosis in liver. Fetus no. 6 HE x 100



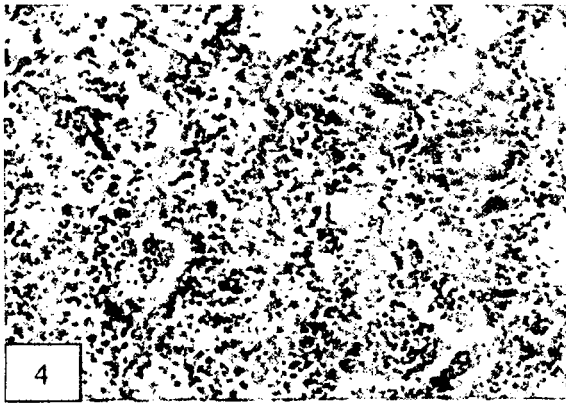
Şekil 3. Karaciğerde brusella antijeninin hücre içinde ve dışında yerleşimi. 20 no'lu fötüs. İmunperoksidaz-hematoksilen X 400.

Figure 3. Intracellular and extracellular location of brucella antigen in liver. Fetus no.20 İmunoperoxidase-hematoxylin x 400.



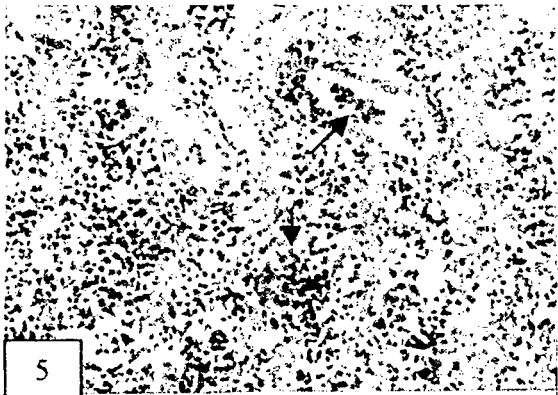
Şekil 4. Kataral bronkopnömoni. Akciğerde bronşiol ve alveol lumenlerinde nötrofil lökositler ve alveolar makrofajlardan oluşan hücreden zengin eksudat. 10. No'lu fötüs. HE x. 200.

Figure 4. Catarrhal bronchopneumonia. Exudate consisted of neutrophils and alveolar macrophages in bronchiolar and alveolar lumens of a fetal lung. Fetus no. 10. HE x 200.



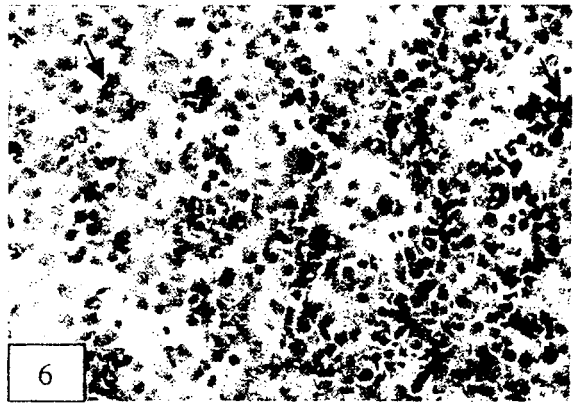
Şekil 5. Akciğerde bronşiol ve alveol lumenlerindeki eksudatta (oklar) brusella spesifik boyanmalar. 6 no'lu fötüs. İmmunperoksidaz-hematoksilen x 200.

Figure 5. Specific-stained brucellae in exudate within bronchiolar and alveolar lumens in a fetal lung (arrows). Fetus no. 6. Immunoperoxidase-hematoxylin x200.



Şekil 6. Akciğerde alveol lumenlerindeki nötrofil lökosit (beyaz oklar) ve makrofajların (siyah oklar) sitoplazmasında brusella spesifik boyanmalar. 5 no'lu fötüs. İmmunperoksidaz-hematoksilen x 400.

Figure 6. Brucella-specific staining in cytoplasm of neutrophils (white arrows) and macrophages (black arrows) within alveolar spaces of a fetal lung. Fetus no. 5. Immunoperoxidase-hematoxylin x 400.



**Akciğer** Yirmioç fötüste pnömoni gözlemlendi. (Tablo 2, 3). Bronkopnömoni şeklinde görülen lezyonlar, alveoller içinde çoğunlukla nötrofil lökositlerin bulunmasıyla karakterize yangısal değişikliklerle belirlendi. Alveol lumenlerindeki nötrofil lökositlerden zengin eksudata az ya da çok sayıda alveolar makrofajların da katıldığı gözlemlendi (Şekil 4). Hava yolları, çok sayıda nötrofil lökositler, mukus, fibrin, dökülmüş epitel hücreleri, nekrotik hücre artıkları ve makrofajlardan oluşan bir eksudatla doluydu. İki no'lu olguda bronşiol lumenlerindeki hücresel eksudatın, bağdoku elemanlarıyla karıştığı dikkati cektii. Bir ve 5 no'lu olgularda, bronş ve bronşiol epitelleri hiperplazikti. Yedi no'lu olguda ise hava yollarının epitelleri nekrotik olup kısmen veya tamamen dökülmüştü. Bu fötüste görülen nekrotik-obliteratif bronşitis ve bronşiolitis tablosu, pnömoninin hakim olan özelliğiydi. Bazen mikrop kümelerini de içeren fokal nekrotik kitlelerin yer yer ya da tümüyle

kireçlendiği görüldü. Kireçlenme, bazı bronş ve bronşiollerin nekrotik epitel katında da gözlemlendi. Beş olguda (2, 6,7,15,17 no'lu), bronşların lamina propriyasında ve submukoza katında özellikle damar çevresinde ve bezler arasında yoğunlaşan mononükleer hücre infiltrasyonu vardı. Üç olguda (12,16,21 no'lu) kataral bronko-pnömoni, fokal alanlar halindeydi. Ondört no'lu olguda da parankimde özellikle büyük damarlar çevresinde, fokal alanlar tarzında kanamalar vardı. Dört olguda (7, 8, 14, 15 no'lu)

interlobuler septal doku ve plöra, ödemli ve nötrofil lökositler ile çoğunlukla makrofajlardan oluşan yangı hücreleri ile yoğun şekilde infiltreydi. İnterlobuler septal ödem ve hücre infiltrasyonu, pnömoni görülmeyen üç olguda (23, 24, 26 no'lu) da gözlemlendi. Pnömoni görülen akciğerlerden üçünde (2, 6, 10 no'lu), ayrıca bronş ve bronşiol lumenlerinde çok miktarda sarı renkte mekonyum tespit edildi.

**Tablo 2, Akciğerlerdeki Pnömoni Lezyonlarının Histolojik Olarak Sınıflandırılması**

**Table 2. Histologically classification of pneumonia lesions in the lungs.**

Pnömoni tipi	Adedi	Fötüs No
Bronkopnömoni	23	
-Kataral	21	(1-6,8-13,15-18 21,22,28-30)
- Kataral-Hemorajik	1	(14)
-Nekrotik	1	(7)

**İmmunperoksidaz boyanma-** Spesifik antijen boyanması, 26 olguda, bronş, bronşiol ve alveol lumenlerindeki eksudat içinde serbest halde ya da nötrofil lökosit ve makrofajların sitoplazmasında görüldü (Şekil 5 ve 6) Antijen, 5 olguda ayrıca interalveolar septal dokuda ve 7 no'lu olguda nekrotik kitlelerde görülen mikrop kümelerinde ve bazı nekrotik bronşiol epitellerinde saptandı (Tablo 3).

**Kalp** – İki olguda (5,7 no'lu), miyokardta kas telleri arasında ve damarlar

çevresinde hafif nötrofil lökosit infiltrasyonu, 2 olguda (22, 25 no'lu) da az sayıda nötrofil lökositler ile çoğunluğunu makrofajların oluşturduğu hücre infiltrasyonları görüldü (Şekil 7). Bu olgularda ayrıca damarlarda hipcremi ve kas tellerinde hafif dejeneratif değişiklikler vardı (Tablo 3).

**İmmunperoksidaz boyanma-** Brusella antijeni, 6 olguda kas tellerinde (Şekil 8) saptandı (Tablo 3).

**Tablo 3. Parakim Organlarındaki Histolojik Lezyonlar ile İmmunperoksidaz Sonuçlar**

**Table 3. Histologic lesions and immunoperoxidase results in paranchymatous organs.**

Fötüs No	Histolojik lezyon					İmmunperoksidaz Boyanma				
	AC	KC	DL	BÖB	K	AC	KC	DL	BÖB	K
1	+++	++	İA	-	-	+++	+	İA	-	-
2	++	++	İA	-	-	++	+	İA	-	-
3	+++	++	İA	-	-	+++	+	İA	-	-
4	++	++	++	++	-	++	+	+	+	-
5	+++	+	+	+++	+	+++	+	+	+	+
6	+++	+++	+	-	-	+++	+	+	-	-
7	+++	++	+	+	+	+++	+	+	+	+
8	++	++	+	-	-	++	+	+	-	+
9	++	+	++	-	-	++	+	+	-	-
10	+++	İA	İA	-	-	+++	İA	İA	-	-
11	++	++	+	-	-	+	+	+	-	-
12	++	+	+	-	-	++	+	+	-	-
13	++	-	+	-	-	++	+	+	-	-
14	++	-	+	-	-	++	+	+	-	-
15	+++	++	+	-	-	+++	+	+	-	-
16	++	++	+	++	-	++	+	+	+	-
17	++	+	+	++	-	++	+	+	-	-
18	++	-	++	-	-	++	+	+	-	-
19	-	-	++	-	-	-	+	+	-	-
20	-	+	+	-	-	-	+++	+++	-	-
21	++	-	+	-	-	+	+++	+++	-	-
22	+++	-	+	+	-	+++	+	+	-	+
23	+	+	+	-	+	+	+	+	++	-
24	+	-	+	-	-	++	+	+	+++	++
25	-	+	++	+	+	-	++	++	-	+
26	+	+	+	-	-	+	+	+	++	-
27	-	-	+	-	-	-	+++	+++	-	-
28	++	+	++	-	-	++	+	+	-	-
29	++	-	+	-	-	+	+	+	-	-
30	++	++	+	-	-	++	+	+	-	-
<b>Toplam</b>	<b>26/30</b>	<b>20/29</b>	<b>26/26</b>	<b>7/30</b>	<b>4/30</b>	<b>26/30</b>	<b>29/29</b>	<b>26/26</b>	<b>7/30</b>	<b>6/30</b>

AC : Akciğer, KC: Karaciğer, DL: Dalak, BÖB: Böbrek, K: Kalp, İA: İncelemeye alınmadı.

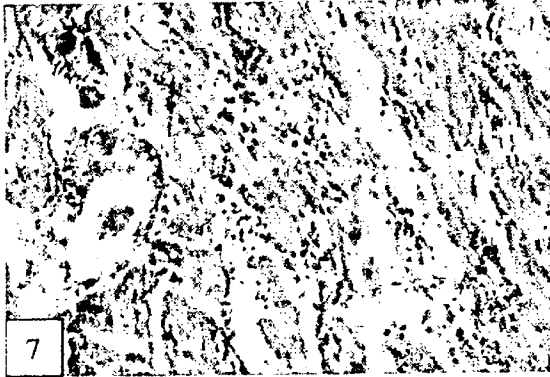
-: Normal +: hafif dercede ++ : orta dercede +++: şiddetli dercede.

**Böbrek:** İki olguda, (4, 5 no'lu) kortekste ve 6 olguda (4, 5, 7, 16, 17, 25 no'lu) kortikomedüller bölgede, interstisyel dokuda çizgi tarzında ya da fokal alanlar halinde hücre infiltrasyonları vardı (Şekil 9). Bu hücre infiltrasyonları, 17 ve 25 no'lu olgularda mononükleer hücrelerden oluşmuştu. Diğerlerinde ise çoğunluğunu makrofajların oluşturduğu ve bunlara nötrofil lökositler ile 5

no'lu olguda ayrıca tek tük eozinofil lokositlerin de katıldığı hücre infiltrasyonları görüldü. Medulla da 3 olguda (5, 16, 17 no'lu) interstisyel dokuda fokal alanlar halinde, nötrofil lökositler ile çoğunlukla mononükleer hücrelerden oluşan hücre infiltrasyonları mevcuttu. 23 no'lu olguda ise sadece medulladaki interstisyel dokuda, odaklar halinde nötrofil lökosit infiltrasyonları gözlemlendi (Tablo 3).

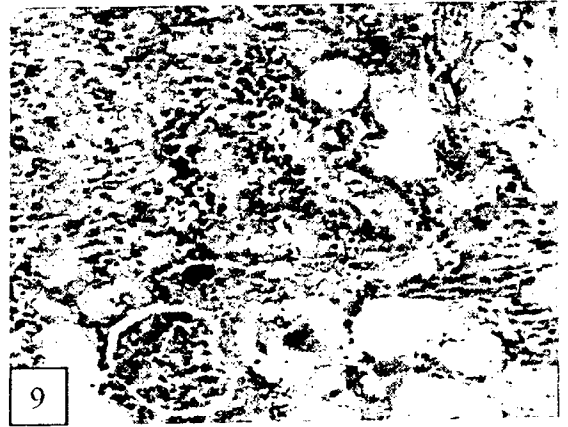
Şekil 7. Miyokardta kas telleri arasında yangısel hücre infiltrasyonu. 22 no'lu fötüs. HE x 200.

Figure 7. Inflammatory cell infiltration between myocardial fibrils. Fetus no. 22 HE x 200.



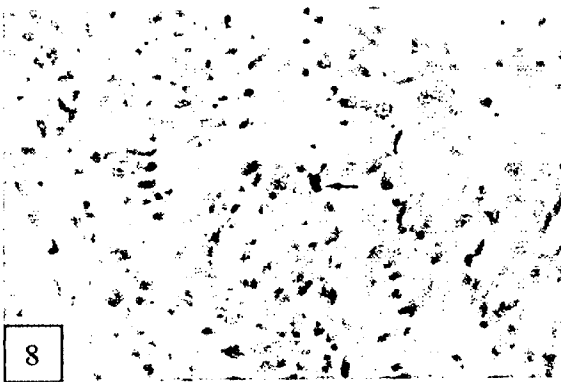
Şekil 9. Böbrekte kortikomedüller bölgede interstisyel mononükleer hücre infiltrasyonu. 5. No'lu fötüs Hex 200.

Figure 9. Intersititiel mononuclear cell infiltration at the corticomedullary junction of a fetal kidney. Fetus no. 5. HE x 200.



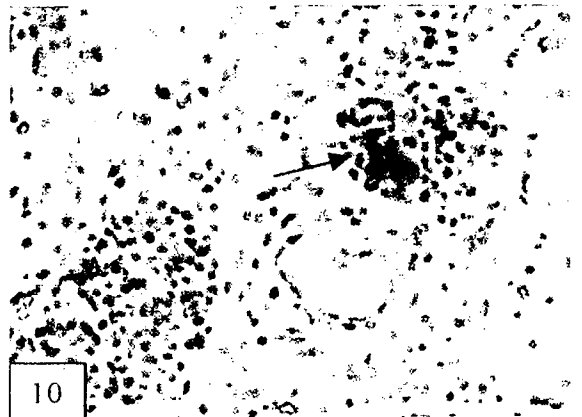
Şekil 8. Miyokardta kas telinde antijen spesifik boyanma (ok) 24 no'lu fötüs. İmmunperoksidaz-hematoksilen x400.

Figure 8. Brucella-specific staining in a myocardial cell (arrow). Fetus no. 24 İmmunoperoxidase-hematoxylin x. 400.



Şekil 10. Böbrekte glomerulusta antijen spesifik boyanma (ok) 26 no'lu fötüs. İmmunperoksidaz-hematoksilen x 400.

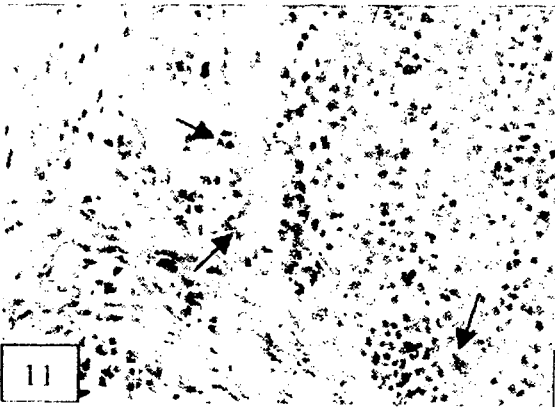
Figur 10. Brucella-specific staining in glomerulus of a fetal kidney (arrow). Fetus no 26. İmmunoperoxidase-hematoxylin x 400.





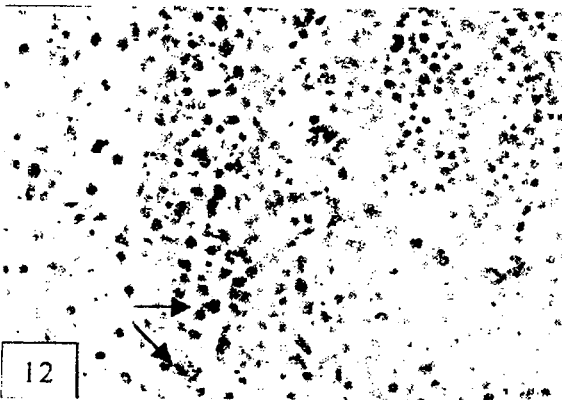
Şekil 11. Dalakta kapsulada ve kırmızı pulpa hücrelerinde brusella spesifik boyanmalar (oklar) 20 no'lu fötüs. İmmunperoksidaz-hematoksilen x 400.

Figure 11. Brucella-specific stainings in capsula and cells of red pulp of a fetal spleen (arrows). Fetus no. 20. Immunoperoxidase-hematoxylin x 400.



Şekil 12. Bronşial lenf düğümünde subkapsular sinusun endotel hücrelerinde brusella spesifik boyanmalar (oklar) 24. no'lu fötüs. İmmunperoksidaz-hematosilen x 400.

Figure 12. Brucella-specific stainings in endothelial cells of subcapsular sinus of a bronchial lymph node (arrows). Fetus no. 24. Immunoperoxidase-hematoxylin x 400.



**İmmunperoksidaz boyanma** – Antijen, 5 olguda (4, 5, 7, 16, 23 no'lu) nötrofil lökosit ve makrofajlarda, 3 olguda (23, 24, 26 no'lu) kortekste glomeruluslarda (Şekil 10) ve tubulus epitellerinin sitoplazmasında saptandı. Spesifik boyanma, bunlardan 2 olguda (23, 24 no'lu) ayrıca medulladaki interstisyumda fokal alanlar tarzında ve buradaki toplayıcı tubulusların epitellerinde gözlendi (Tablo 3).

**Dalak** – Yedi olguda (4, 6, 7, 9, 18, 19, 25 no'lu) fokal ve 1 olguda (28 no'lu) diffuz perisplenitis mevcuttu. Yedi olguda (4, 8, 11, 15- 18 no'lu), dalak kapsülünde fokal mononükleer hücre infiltrasyonu ve iki olguda (4, 16 no'lu) ayrıca vakuoler bir görünüm vardı. İncelenen olguların çoğunda (24/26) değişen derecelerde lenforetiküler hiperplazi saptandı (Tablo 3).

**İmmunperoksidaz boyanma**- Spesifik antijen boyanması, kırmızı pulpanın makrofaj seri hücrelerinde (Şekli 11) ve sinusoidlerde serbest halde gözlendi. Antijen, iki olguda (11, 20 no'lu), ayrıca dalak kapsülünde tespit edildi. (Şekil 11) Perisplenitis görülen olgularda boyanma, fagositlerin sitoplazmalarında da saptandı (Tablo 3).

**Bronşial lenf düğümü** – İncelenen 13 olgudan 7'sinde (5,7,19,23, 24, 26, 27 no'lu), bronşial lenf düğümlerinde perilenfadenitis vardı. Yedi olguda (5, 7, 17, 23, 24, 26, 29 no'lu) Sinus katarh tablosu görüldü. Subkapsüler ve meduller sinuslar genişlemiş ve içleri dökülmüş endotel hücreleri, nötrofiller veya lenfositler ile doluydu. (Tablo 4)

**İmmunperoksidaz boyanma**- Spesifik antijen boyanması, 7 olguda sinusların sağlam ya da dökülmüş endotel hücrelerinde (Şekil 12), sinuslar içinde ve perilenfadenitis görülen olgularda, ayrıca fagositlerin sitoplazmalarında gözlendi (Tablo 4).

**Tablo 4 Diğer Föetal Organlardaki Histolojik Lezyonlar İle İmmunperoksidaz Sonuçlar**  
**Table 4. Histologic lesions and immunoperoxidase results in the other fetal organs.**

Fötüs No	Histolojik Lezyon				İmmunperoksidaz Boyanma			
	LD	ÖSE	T	BAĞ	LD	ÖSE	T	BAĞ
5	++	-	-	-	+	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-
7	++	++	-	-	+	++	-	-
14	-	-	-	+	-	-	-	+
17	+	-	-	-	+	-	+	-
19	+	-	-	++	+	-	-	+
23	++	-	-	-	+	-	+	-
24	++	+	-	-	++	++	-	-
26	++	-	-	++	+	-	+	-
27	+	-	-	++	+	-	-	++
28	-	-	-	-	-	-	-	+
29	+	-	-	+	+	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	+	++
Toplam	9/13	2/13	0/13	5/13	9/13	2/13	4/13	5/13

LD : Bronşial lenf düğümü, ÖSE: Ösefagus, T: Timus, BAĞ: İnce Bağırsak  
 -: Normal +: Hafif derecede, ++: Orta derecede

**Ösefagus Alt 1/3** İncelenen 13 olgudan birinde 7 nolu), ösefagus lumeninde nötrofil lökositler, dökülmüş epiteller ve mikrop kümelerini içeren bir eksudat gözlendi. Lamina epitelyaliste belirgin derecede hidropik dejenerasyon vardı. Mukozanın bir yerinde ülser görüldü. Lamina propriyada hafif derecede lenfoid hücre infiltrasyonu mevcuttu. 24 no'lu olguda ise ösefagusun sadece submukoza ve seroza katlarında az sayıda nötrofil lökosit ve çoğunluk makrofajlardan oluşan yangısal bir hücre infiltrasyonu gözlendi. (Tablo 4).

**İmmunperoksidaz boyanma-** Spesifik antijen boyanması, 7 no'lu olguda ösefagus lumenindeki içerikte ve lamina propriyada serbest halde, 24 no'lu olguda submukoza ve seroza katlarındaki nötrofil lökosit ve makrofajlar ile adventisyal hücrelerde saptandı (Tablo 4).

**Timus** – İncelenen 13 olguda histolojik olarak bir değişiklik görülmedi (Tablo 4).

**İmmunperoksidaz boyanması** – Spesifik antijen boyanması, 4 olguda (17, 23, 26, 30 no'lu) korteksteki kapillarlar içinde ve medülladaki Hassal korpüsküllerinde (Şekil 13) görüldü. (Tablo 4).

**İnce Bağırsak** – İncelenen 13 olgudan 3'ünde (14, 19, 30 no'lu), ince bağırsağın lamina propriya katında hafif derecede mononükleer hücre infiltrasyonu vardı. Üç olguda (19, 27, 28 no'lu), seroza katının fokal olarak ödem sıvısıyla genişlediği ve aralarında nötrofil lökositler ile lenfositlerin de bulunduğu ve çoğunluğunu makrofajların oluşturduğu hücreler tarafından diffuz şekilde infiltre olduğu görüldü. 28 no'lu olguda submukoza katında da tek tük nötrofil lökosit ve mononükleer hücre infiltrasyonları vardı (Tablo 4).

**İmmunperoksidaz boyanma** – Spesifik antijen boyanması, 3 olguda (19, 27, 28 no'lu) yangılı seroza katındaki fagositlerin sitoplazmalarında ve ödemli interstisyumda, 14 ve 30 no'lu olgularda bağırsak lumenindeki içerikte ve 30 no'lu olguda ayrıca bez lumenlerinde ve lamina propriyada saptandı (Tablo 4).

**Göbek kordonu (Üst 1/3)-** İncelenen 5 olgudan (17,23, 27-29 no'lu) birinde (28 no'lu), Arteria umbilikalisler'in media katında ve media-adventisya katları arasında fokal nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonları mevcuttu. Adventisya katında ayrıca fokal nekroz alanları ve buna eşlik eden yoğun nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonları gözlemlendi.

**İmmunperoksidaz boyanma-** Spesifik antijen boyanması, 23 no'lu olguda Wharton jelinde, 28 no'lu olguda yangılı damar katlarındaki infiltre nötrofil ve makrofajların sitoplazmasında ve bu infiltrasyon sahalarında serbest olarak gözlemlendi.

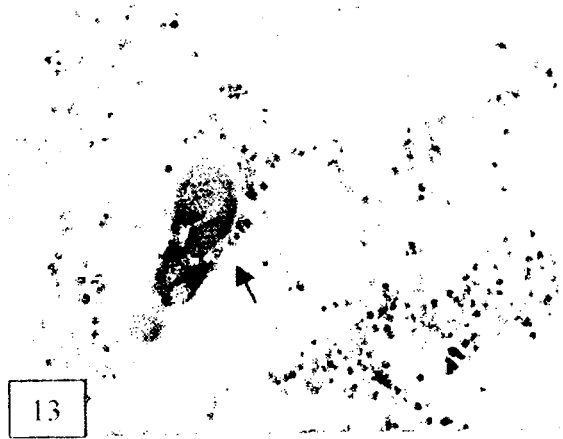
**Beyin** – İncelenen bir olguda (16 no'lu) histolojik bir değişiklik görülmedi.

**İmmunperoksidaz boyanma-** Spesifik antijen boyanması, meningeal damar endotellerinde ve lateral ventriküllerin subependimal nöyropili ile damar lumenlerinde (Şekil 14 görüldü).

**Bakteriyolojik Bulgular:** Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Yetiştirme Hastalıkları Laboratuvarında, organlardan yapılan ekimler sonucu besi yerlerinde gelişen kültürler, koloni morfolojileri ve mikroskobik özelliklerine göre Brusella spp olarak tespit edildi.

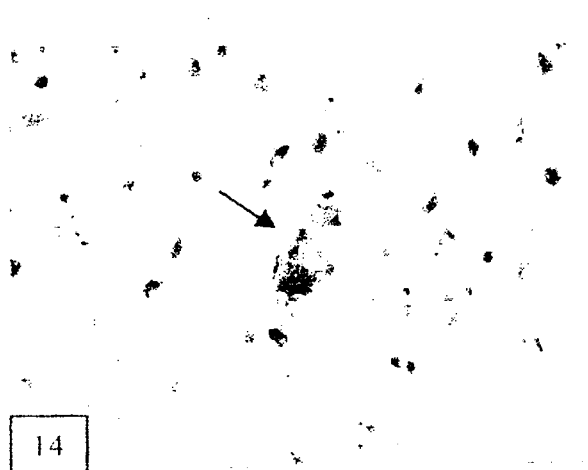
Şekil 13: Timusta bir Hassal korpuskülünde brucella spesifik boyanma (ok). 23 nolu fötüs. İmmunperoksidaz-hematoksilen x. 400.

Figure 13: Brucella-specific staining in Hassal Corpuscule of a fetal timus (arrow). Fetus no. 23. İmmunoperoxidase hematoxylin x. 400.



Şekil 14: Beyinde bir kapillar damar lumeninde brusella spesifik boyanma (ok) 16 no'lu fötüs. İmmunperoksidaz-hematoksilen x 400.

Figure 14: Brucella-specific staining within lumen of a capillary vessel in a fetal brain (arrow). Fetus no. 16. İmmunoperoxidase-hematoxylin x.400.



## TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmada, koyunlarda bruselloza bağlı abortus olaylarında atık fötüslerdeki lezyonlar morfolojik olarak değerlendirildi. Doku kesitlerinde brusella antijeninin varlığının ve lokalizasyonun saptanması için immunperoksidaz tekniği kullanıldı. Ayrıca bakterinin morfolojik lezyonlarla ilişkisi analize edildi (Tablo 3, 4, 6). Fötal organlarda gözlenen morfolojik değişiklikler, daha önce bildirilenlere (15, 28) benzerdi.

Subkutan ödem ve vücut boşluklarında çok miktarda seröz- kanlı bir sıvının varlığı, B. ovis ile deneysel enfekte koyun fötüsleri (28) ve B. abortus ile deneysel enfekte koyun (15) ve keçi (5) fötüslerinde bildirilmiştir. Benzer bulgular, atık olayından önce uterus içinde ölen sığır fötüslerinde de açıklanmıştır (14). Çalışmada da nekropsisi yapılan fötüslerin çoğu, ölü halde atıldığı ve atılmadan önce uterus içinde otolize uğradığından bu bulgularla sık karşılaşıldı. Makroskobik olarak pnömonili akciğerlerde gözlenen boz-beyaz renkli odaklar, B. abortus ile deneysel enfekte koyun fötüslerinde Gorham ve ark (15) tarafından bildirilen bulgularla uyumluydu. Bir olguda (28 nolu) görülen fibrinli peritonitis de B. abortus ile deneysel enfekte koyun (15,30), keçi (5) ve B. ovis ile doğal enfekte koyun fötüslerinde (21) gözlenen bulgular arasındaydı.

Çalışmada başlıca histolojik değişikliklerin saptandığı organlar, akciğer karaciğer ve dalaktı (Tablo 3). Akciğerde pnömoni, karaciğerde periportal hücre infiltrasyonları ile parankimal nekroz odakları ve dalakta lenfositiküler hiperplazi, gözlenen başlıca histolojik lezyonlardı. Pulmoner lezyonlar, brusella ile enfekte sığır ve keçi fötüslerinde histolojik olarak saptanan temel değişiklik olarak açıklanmış ve

bronkopnömoni ile interstisyel pnömoninin bu fötüslerde karakteristik akciğer lezyonları olarak düşünüldüğü kaydedilmiştir (14, 24). Brusella ile enfekte koyun fötüslerinde de bronkopnömoni (15,21) ve interstisyel pnömoni (28) bildirmiştir. Çalışmada da 30 fötal akciğerden 23'ünde görülen pnömoni, atık fötüslerde tespit edilen ana bulguydu. Bronkopnömoni özelliğindeki hücreden zengin eksudatif lezyonlar, kataral, kataral-hemorajik ve nekrotik karakterdeydi. B. abortus ile doğal ve deneysel enfekte sığır fötüslerinde (14), alveolar eksudatta görüldüğü bildirilen çok çekirdekli dev hücreler, bu çalışmada gözlenmedi. Sığır fötüslerinde, Enright ve ark (14) tarafından yapılan çalışmada, bronş ve bronşollerin mukozasında bir değişiklik bildirilmemiş olmasına karşın, Lopez ve ark(22) tarafından B. abortus ile doğal enfekte sığır fötüslerinde yapılan başka bir çalışmada, bronş ve bronşiol epitellerinde nekroz, B. abortus izolasyonu ile ilişkili bulunan önemli bir akciğer değişikliği olarak bildirilmiştir. Çalışmada ise bir olguda (7 no'lu) bronş ve bronşiol epitellerinde nekroz ve kireçleme, 2 olguda (1 ve 5 no'lu) da hiperplazi gözlendi. Ayrıca 5 olguda (2,6,7,15 ve 17 no'lu) bronşların lamina propria ve submukoza katlarında mononükleer hücre infiltrasyonları saptandı. B. ovis ile deneysel enfekte koyun fötüslerinde görüldüğü bildirilen peribronşoller lenfoid hiperplazi(28), çalışmada gözlenmedi. Pnömoninin genellikle anoksi sarasında mekonyum ve dolayısıyla bakterilerle kontamine olmuş amniyon sıvının aspirasyonu sonucu oluşturduğu ileri sürülmektedir (27). Bu çalışmada pnömonili akciğerlerden sadece üçünde (2,6 ve 10 no'lu), bronş ve bronşiol lumenlerinde çok miktarda mekonyum tespit edildi. Sığır fötüslerinde yapılan bir çalışmada (22) da B. abortus izolasyonu yapılan fötüsün

hava yollarında, bakterilerin bulunmasına karşılık mekonyumun görülmediği ve bu fötüslerde hava yollarındaki şiddetli yangısal ce vabın, mekonyumun varlığını maskeleymiş olabileceği ifade edilmiştir. B. abortus ile deneysel enfekte koyun (15) ve keçi (24) fötüslerinde bildirilen plöral ödem, çalışmada pnömonili 4 olguda (7, 8, 14, 15 no'lu) gözlemlendi. Ödem, lenf damarlarında dilatasyon ve interlobuler septaların hücresel infiltrasyonu, B. abortus ile deneysel enfekte sığır fötüslerinde, akciğerde gözlenen ilk değişiklikler olarak bildirilmiştir. Enfeksiyonun bu devresinde akciğer parakimi normal olduğundan yangısal odakların ilk olarak interlobuler septalarda görülmesinin, hematojen yayılmanın bir göstergesi olduğu ifade edilmiştir (14). Bu çalışmada, interlobuler septal ödem ve yangısal hücre infiltrasyonu, pnömoni görülmeyen 3 olguda (23,24,26 no'lu) gözlemlendi ve 4 olguda (7, 8, 14, 15 no'lu) da pnömoni lezyonlarıyla birlikteydi. B. abortus ile enfekte sığır fötüslerinde (14) pulmoner arterlerde fibrinoid nekroz ve keçi fötüslerinde (24) perivasküler segmental lenfohistiyositer infiltrasyon, pnömonili akciğerlerde bildirilen damar lezyonlarıdır. Çalışmada, 5 olguda bronşların lamina propriyasında perivasküler hücre infiltrasyonları saptandı.

Karaciğerde periportal hücre infiltrasyonu, B. ovis ile deneysel enfekte koyun (28) ve B. abortus ile deneysel enfekte keçi (5, 24) fötüslerinde bildirilen bir bulgudur. Bu çalışmada, 18 olguda görülen portal bölgelerin yangısal hücre infiltrasyonu, B. abortus ile enfekte keçi fötüslerinin (24) aksine, B. ovis ile enfekte koyun fötüslerinde (28) olduğu gibi sık rastlanan bir bulgu olarak saptandı. B. abortus ile doğal ve deneysel enfekte sığır fötüslerinde (14), karaciğerde

gözlenen fokal nekroz odakları, bruselloza ilgili atık fötüslerde sık bildirilen lezyonlar arasında değildir. Brusella spp. İzolasyonunun yanısıra immünperoksidad boyamalarda da nekroz odaklarının görüldüğü karaciğerlerde brusella antijeni tespit edildi. Nekroz odaklarının oluşması, etkenlerin patojenitesine, bakterilerden salınan endotoksine ve konakçı duyarlılığına bağlanabilir. İki olguda (5 ve 12 no'lu) parakimde gözlenen diffuz hidropik dejenerasyon da fötüste gelişen hipoksiye ilgili bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

Dalakta lenforetiküler hiperplazi ve lenf düğümlerinde lenfadenitis, B. ovis ile enfekte koyun fötüslerinde bildirilen bulgulardır (28). Çalışmadaki bulgular, bu bulgularla uyumlu olmakla birlikte, farklı olarak dalak ve bronşial lenf düğümünü çevreleyen serozalarda da yangı tespit edildi B. abortus ile enfekte sığır fötüslerinde görüldüğü bildirilen dalak nekrozu (17) ve lenf düğümlerinde görülen dev hücreli ve nekrozlu granülomlar (14) çalışmada gözlenmedi.

Böbreklerde, B. abortus ile deneysel enfekte keçi fötüslerinde (24) fokal subkapsüler, sığır fötüslerinde (14) kortekste fokal mononükleer hücre infiltrasyonlarının gözlemlendiği bildirilmiştir. B. ovis ile deneysel enfekte koyun fötüslerinde (28) de kortikomedüller sınırda nötrofil lökosit ya da mononükleer hücre infiltrasyonları bildirilmiştir. Çalışmada fokal alanlar halinde görülen ve mononükleer hücrelerden ya da nötrofil ile makrofajlardan oluşan hücre infiltrasyonları, kortikomedüller bölgeye sınırlı olmayıp korteks ve medüllada da tespit edildi.

Epikarditis, B. abortus ile enfekte sığır fötüslerinde bildirilen lezyonlar arasındadır.(17) Bu çalışmada ise sadece miyokarda hafif yangısal hücre infiltrasyonları gözlemlendi. İnterlobüler septal ödem ve kortikal

lenfoid hücrelerde azalma, B. abortus ile enfekte keçi fötüslerinin (24) aksine sığır fötüslerinin timusunda sık gözlenen bulgular olarak bildirilmiştir.(14). Çalışmada ise incelenen timuslarda histolojik bir değişiklik saptanmadı. B. ovis ile deneysel enfekte koyun fötüslerinde (28) olduğu gibi, bu çalışmada da ince bağırsağın lamina propria katında mononükleer hücre infiltrasyonları görüldü. Farklı olarak üç olguda bağırsağın seroza katında da fokal yangı alanları vardı. Ensefalitis, meningitis ve ependimitis, B. Abortus ile doğal enfekte sığır fötüslerinde bildirilen beyin lezyonlarıdır (16, 17).Çalışmada sadece bir beyin incelendi ve histolojik bir değişiklik gözlenmedi.

Bu çalışmada, bir olguda (28 no'lu fötüs) da göbek kordonu arterlerinde (arteria umbilicales) nekrotik arteritis tablosu gözlemlendi. Bu bulgu, fötüste yıkılmış plasental damarlar yoluyla bir baktereminin geliştiğini göstermektedir. Aynı fötüste saptanan diffuz perisplenitis ve bağırsağın seroza katındaki fokal serositis bulguları da bu olguda, civciv embriolarında serozalardaki enfeksiyonun oluşmasında sarı kesesi enfeksiyonunun rolüne benzer şekilde (13), baktereminin yanısıra yangılı göbek kordonundan köken alan enfeksiyon bulgusunu da akla getirmektedir.

Brusellaların fetal dokularda hücre içinde ve dışındaki yerleşimi, birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. (17,24, 25). Doku kesitlerinde Brusella antijeninin lokalizasyonunun gösterilmesinde son yıllarda immunperoksidaz tekniklerden yaygın şekilde yararlanılmıştır (1,13,17,24,25). Brusella antijeni, fetal dokularda fagositlerde hücre içinde, damar lumenlerinde ve interstisyumda ise hücre dışında gözlenmiştir. (17,24,25). Bu çalışmada da brusella antijeni, genellikle çoğu fetal dokularda nötrofil lökosit ve

makrofajların sitoplazmasında, interstisyumda, eksudat içinde ve damar lumenlerinde görülmekle birlikte ayrıca karaciğerde hepatositlerde, Kupfer hücrelerinde ve safra kanalı epitellerinde, akciğerde bronşiol epitellerinde, kalpte kas tellerinde, böbrekte glomeruluslarda ve tubulus epitel hücrelerinde, dalakta kırmızı pulmanın makrofaj seri hücrelerinin yanısıra dalak kapsülünde; lenf düğümlerinde sinus endotellerinde; timusta Hassal korpüsküllerinde; göbek kordonunda Wharton jelinde ve yangılı damar katlarında; beyinde meningeal damar endotellerinde ve subependimal nöyropilde saptandı.

B. abortus ile deneysel enfekte 10-12 günlük civciv embriolarında yapılan bir çalışmada (13) da spesifik boyanma, hepatositlerde, kalp kası tellerinde, böbrek glomeruluslarında, interstisyumda ve bu çalışmadan farklı olarak mezotelyal hücrelerde bildirilmiş ancak böbrekte tubulus epitellerinde gözlenmiştir. Civciv embriolarında yapılan elektron mikroskopik çalışmalar da antijenin, bu çalışmada görüldüğü gibi, karaciğerde Kupfer hücrelerinde ve dalak makrofajlarındaki yerleşimini göstermiştir. B. abortus ile deneysel enfekte buzağuların bağırsağında da antijenin, bu çalışmada olduğu gibi, lumende ve lamina propriyada serbest, fagositlerde sitoplazmada gözlemlendiği belirtilmiştir (1). B. abortus ile çalışmadan farklı olarak leptomeningeal makrofajlarda, koroid pleksusta ve ependim hücrelerinde tespit edilmiş, ancak damar lumenlerinde ve nöyropilde spesifik boyanmanın görülmediği bildirilmiştir.

Çalışmada, brusella izolasyonu yapılan tüm karaciğer (n:29) ve dalaklarda (n:26) spesifik boyanma gözlemlendi. Ancak Brusella spp.lerin tüm kültür-pozitif dokularda identifiye edilmediğini bildiren yayınlar da

mevcuttur (24, 25). Araştırmacılar, bu durumun mikroorganizmaların dokularda çok odaklı dağılımına, düşük konsantrasyonlarda bulunmasına ya da fokal mikroorganizma kümelerinin doku kesiti seviyesinin dışında kalmasına ilgili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada, iki olguda (17,25no'lu) böbrekte yangısal reaksiyon görülmesine karşılık antijenin tespit edilememesi de benzer şekilde bakteri kümelerinin o alanda bulunmamasına ya da bu lezyonlardaki yangısal ürünlerin etkenleri yıkımlamasına bağlanabilir. Tersine olarak 9 olguda (13,14,18,19,21,22,24,27,29 no'lu) karaciğerde, 2 olguda (24, 26 no'lu) böbrekte ve 2 olguda (8, 24 no'lu) kalpte, immunperoksidaz boyamalarda pozitif reaksiyon görülmesine karşılık yangısal bir değişiklik saptanmaması da enfeksiyonun yeni oluşmuş ve histolojik olarak gözlenebilir reaksiyonların oluşması için yeterli sürenin geçmemiş olması ile ilgili olabilir.

Sonuç olarak; koyunlarda saha atık olaylarının incelendiği bu çalışmada fötal organlarda saptanan histolojik lezyonlar, ruminantlarda bruselloza ilgili atıklarda bildirilenlere benzerdir. Ayrıca Brusella spp.lerin yerleşimini bildiren deneysel çalışmaları (13,24,25) da doğrular niteliktedir. Brusellozun başlıca histolojik bulgularından olan pnömoninin, atık fötüslerin çoğunda görülmesi, akciğer lezyonlarının brusella enfeksiyonları için karakteristik bir bulgu olabileceğini göstermektedir. İmmunperoksidaz boyamalarda, akciğer ve dalakta lezyon gözlenen fötüslerde, karaciğerde ise histolojik bir bulgu bulunmasına bağlı olmaksızın muayene edilen fötüslerin tümünde spesifik antijen boyanması tespit edilmiştir. Fötal organlardaki histolojik bulgular ve immunperoksidaz boyama

sonuçları, hastalığın tanısında tek başına yeterli olmayıp bakteriyolojik sonuçları, tamamlayıcı niteliktedir. Ancak immunperoksidaz boyama tekniklerinin, özellikle materyalin formalinde tespit edilmesi gibi kültür yapma imkanı olmayan durumlarda, koyunların bruselloza ilgili saha atık olaylarının tanısında kullanılabileceği düşünülmektedir.

Teşekkür: Çalışmada primer antiserum üretiminde kullanılan brusella süspansiyonunun hazırlanmasında yardımcı olan Pendik Vet. Kont. Ve Araşt. Enstitüsü Brusella Laboratuvarı şefi sayın Dr. Yavuz Uysal ile fötal organlardan brusella izolasyonunda yardımcı olan Etlik Vet. Kont. ve Araşt. Enst. Yetiştirme Laboratuvarı şefi sayın Uzm. Vet. Hekim Ziver Karaman'a teşekkür ederim.

#### KAYNAKLAR

1. **Ackermann, M. R., Cheville, N.F., Deyoe, B.,L.** (1988) *Bovine ileal dome lymphoepithelial cells: Endocytosis and transport of Brucella abortus strain 19*. Vet. Pathol., 25, 28-35.
2. **Alibaşoğlu, M.** (1959) *Dişi Koyunlarda Brusellosis Melitensis'de Histopatolojik Araştırmalar*. Ankara Üniv. Vet. Fak.Yay. No 101. Doktora Tezi Yeni Matbaa. Ankara.
3. **Allsup, T.N.** (1969) *Abortion in sheep associated with Brucella abortus infection*. Vet. Rec., 84,104-108.
4. **Alton, G.G., Jones, L.,M., Angus, R.G., Verger,J.M.**(1988) *Techniques. for the brucellosis laboratory*. Inra, Paris, pp. 29-36,53-54.
5. **Anderson, T.D., Meodor, V.P., Cheville, N.F.** (1986) *Pathogenesis of placentitis in the goat inoculated with Brucella abortus. I. Gross and histologic lesions*. Vet. Pathol., 23, 219-226.
6. **Anonim** (1964) *Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis. 4 th report, World*

Health Organisation, Technical Report Series, No. 289.

7. **Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Akay, Ö.** (1992) Özel Mikrobiyoloji Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik Enfeksiyonlar, Atatürk Üniv. Yay. No. 741, Kars.
8. **Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür, M.; Karaer, Z., Diker, S., Kırpal, G.** (1987) *Atiologische Untersuchungen über den Abort bei Schafen unter besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Brucellen, Campylobacter, Salmonellen, Listerien, Leptospiren und Chlamydien*, Berl. Munch. Tierarztl. Waschr., 100,405-408.
9. **Bannatyne, C.C.** (1960) *Brucella abortus infection in a Blackface ewe*. Vet. Rec., 72, 66.
10. **Baran, S.** (1963) *Brucellosis Melitensis*'li erkek, dişi, gebe Karagül ve Dağlıklarda anatomohistopatolojik araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay. No. 153. Çalışmalar 91. Ankara Üniversitesi Veteriner ve Ziraat Fakültesi Basımevi, Ankara.
11. **Bruce, E.A.** (1930) *Brucellosis in sheep*, JAVMA, 76,841-842.
12. **Corbel, M Thomas, E.J., Gill, K.P.W., L.** (1983) *Methods for the identification of Brucella*. Ministry of agriculture, fisheries and food. Central Veterinary Laboratory. Maff publications, Booklet 2085, New Haw, Weybridge, Surrey, pp. 18.
13. **Detilleux, P.G., Cheville, N.f., Deyoe, B.,L** (1988) *Pathogenesis of Brucella abortus in chicken embryos*. Vet. Pathol., 25, 138-146.
14. **Enright, F.M., Walker, J.V., Jeffers, G., Deyoe, B.L** (1984) *Cellular and humoral responses of Brucella abortus-infected bovine fetuses*. Am J. Vet. Res., 45, 424-430.
15. **Gorham, S.L., Enright, F.M., Snider III, T.G., Roberts, E. D.** (1986) *Morphologic lesions in Brucella abortus infected ovine fetuses*. Vet. Pathol., 23, 331-332.
16. **Guarda, F.** (1977) *Ulteriori ricerche sulla neoropatologia dei feti bovini abortiti. (Further research on the neuropathology of the aborted fetuses)*. Ann. Fac. Med. Vet. Torino, 24, 1-28.
17. **Hong, C.B. Donahue, J.M., Giles, R.C., Ponacha, K.B., Tuttle, P.A., Cheville, N.F.** (1991) *Brucella abortus-associated meningitis in aborted bovine fetuses*. Vet Pathol., 28, 492-496.
18. **Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N.** (1993) *Pathology of Domestic Animals*. 4 rd. Ed., Vol. 3, Academic Press, Orlando, USA.
19. **Kaya, O., Erganiş, O., Güler, L., Hadimli, H. H.** (1995) *Koyunlarda atıklara sebep olan Brucella, Campylobacter, Salmonella ve Chlamydia'ların bakteriyolojik ve serolojik incelenmesi*. Veterinarium, 1, 17-20.
20. **Kenar, B., Kaya, O., Güler, E.** (1990) *Konya Bölgesinde koyunlarda atıklara sebep olan brucella, Campylobacter, Salmonella ve Chlamydia'ların bakteriyolojik ve serolojik incelenmesi* Veterinarium, 1, 17-20.
21. **Libal, M.C., Kirkbride, C.A.** (1983) *Brucella ovis-induced abortion in ewes* JAVMA, 183, 553-554.
22. **Lopez, A., Hitos, F., Perez, A., Navarro-Fierro, R.R.** (1984) *Lung lesions in bovine fetuses aborted by Brucella abortus*. Can J. Comp Med., 48, 275-277.
23. **Luchsinger, D.W., Anderson, R. K.** (1967) *Epizootiology of Brucellosis in a flock of sheep*. JAVMA, 150, 1017-1021.
24. **Meador, V.P., Hagemoser, W.A., Deyoe, B.,L.** (1988) *Histopathologic findings in Brucella abortus-infected, pregnant goats*. Am. J. Vet. Res., 49, 274-280.
25. **Meador, V.P., Tabatabai, L.B., Hagemoser, W.A., Deyoe, B.L.,** (1986) *Identification of Brucella abortus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues of cows, goats and mice with an avidin-biotin-peroxidase complex immunoenzymatic staining technique*. Am. J. Vet. Res., 47, 2147-2150.
26. **Meinershagen, W.A., Frank, F.W., Waldhalm, D.G.** (1974) *Brucella ovis as a cause of abortion in ewes*. Am. J. Vet. Res., 35, 723-724.



27. **Miller, R.B.** (1977) *A summary of some pathogenic mechanisms involved in bovine abortion.* Can. Vet. J. 18, 87-95.
28. **Osburn, B.L., Kennedy, P.C.** (1966) *Pathologic and immunologic responses of the fetal lamb to Brucella ovis.* Vet. Pathol., 3, 110-136.
29. **Özmen, M., Pir, M.** (1979) *1971-1977 yılları arasında Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsüne gönderilen koyun ve keçi ceninlerinde sıklara sebep olan etkenlerin bakteriyolojik yoklamalarla tesbiti.* Pendik Vet. Mikrobiyol. Enst. Derg., 11, 5-10.
30. **Shaw, W.B.** (1976) *Brucella abortus infection in sheep. II. Experimental infection of ewes.* Br. Vet. Ö., 132, 143-151.
31. **Stoenner, H.G.** (1951) *Isolation of Brucella abortus from sheep.* Am. J. Vet. Res., 118, 101-102.
32. **Yılmaz, S., Karaman, Z.** (1979-1981) *1971-1981 yıllarını kapsayan süre içerisinde sığır ve koyunlardan yapılan Brucella jerm izolasyonları.* Etlik Vet. Mikrobiyol. Enst. Derg., 5, 29-33.