

Atık Sığır Fetüslerinde Kampilobakteriozisin Patolojik İmmunohistokimyasal Mikrobiyolojik ve Gerçek Zamanlı PZR ile Teşhisi

Mehmet TUZCU *  Ertan ORUÇ ** Nevin TUZCU *
Atıla YOLDAŞ * Akın YİĞİN ***

* Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, 01100 Adana - TÜRKİYE
** Konya Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, 42080 Konya - TÜRKİYE
*** Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 01100 Adana - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2009-1355

Özet

Bu çalışmada toplam 105 atık sığır fetüsü kampilobakteriozis yönünden incelenerek hastalığın tanısında uygulanan patolojik bulgular ile immunohistokimyasal, mikrobiyolojik ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Gerçek zamanlı PZR) yöntemlerine ait sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Yapılan incelemelerde, atıklardan 7'sinde gerçek zamanlı PZR ile, 5'inde immunohistokimyasal yöntemle pozitif reaksiyon tespit edilirken yalnızca 4'ünden mikrobiyolojik olarak *Campylobacter ssp.* izole edildi. Sonuç olarak çalışmadaki atık olgularının %6.6'sının (7/105) kampilobakteriozisten kaynaklandığı ve gerçek zamanlı PZR'nin hastalığın tanısında daha güvenilir sonuç verdiği; buna karşın alt yapısı bulunmayan laboratuvarlarda immunoperoksidaz yönteminin de en az mikrobiyolojik yöntemler kadar duyarlı olduğu ve tanıda kullanılabileceği kanısına varıldı.

Anahtar sözcükler: Sığır, Atık, Kampilobakteriozis, İmmunohistokimya, Gerçek Zamanlı PZR, Patoloji

Diagnosis of Campylobacteriosis in the Aborted Bovine Foetuses by Pathological, Immunohistochemical, Microbiological and Real Time PCR

Summary

In this study; 105 aborted bovine fetuses were examined for Campylobacteriosis and pathologic findings were compared with microbiologic, immunohistochemical and real time polimerase chain reaction (Real Time-PCR) methods. Although, *Campylobacter spp.* was microbiologically detected in only 4 cases, this was detected in 5 cases by immunohistochemical method and by Real Time-PCR in 7 cases. It is concluded that 6.6% (7/105) of abortion cases were caused by Campylobacteriosis and Real Time PCR more sensitive and usefull for the the diagnosis of the disease and immunohistochemical method is as sensitive as microbiologic methods for diagnosis in insufficient laboratories.


Keywords: Bovine, Abortus, Campylobacteriosis, Immunohistochemistry, Real Time PCR, Pathology


INTRODUCTION

Atık olguları, sığır yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayba yol açar. Olguların ancak %50-65'inde etiyolojinin belirlenebildiği; bunların %67'sinin bakteriyel, %5'inin viral, %11'nin mantar kaynaklı olduğu kaydedilmiştir ¹. Bu bağlamda sığır ve koyunlarda atıkların çoğunun bakteriyel etkenlerden ileri geldiğine ve özellikle sığırlarda brusellozisin ilk sırayı aldığına; *Campylobacter*, *Leptospira*, *Listeria*, *Salmonella*, *Actinomyces*, *Chlamydia* enfeksiyonlarının da önemli oranda atığa yol açtığına değinilmiştir ¹⁻³.

Sığırlarda bakteriyel nedenlere ilişkin atıkların dağılımını ortaya koymak üzere Kuzeydoğu Anadolu Bölgesinde yapılan bir çalışmada; Kars yöresinde görülen sığır atıklarının %40'unda *Brucella ssp.* ve %1.04'ünde *Campylobacter fetus* tespit edilmiştir ⁴. Arjantin'de 354 atık sığır fetüsü üzerinde yapılan bir başka araştırmada, 193 olgunun etiyolojisi herhangi bir nedene bağlanamazken etiyolojisi saptanan 161 (% 45.5) olgudan 80'inde (%22.6'sında) bakteriyel etken belirlenmiş; en yaygın bakteriyel etken-

 İletişim (Correspondence)

 +90 322 2390490

 mtuzcu42@hotmail.com

lerin 28 olguyla (%7.9) *Brucella abortus*, 26 olguyla (%7.34) *Campylobacter fetus* olduğu açıklanmıştır ⁵.

Kampilobakteriozise bağlı atıklar sığırlarda gebeliğin 6 ile 8'inci aylarında görülür ². Plasenta erken dönemdeki olgularda atılırken geç dönemdekilerde uterusu kalır ⁶. *C. fetus subsp fetus*, sığırlarda sporadik atığa neden olur ⁷. Etken kısa bir bakteriyemiden sonra plasentaya yerleşir. Plasenta ve kotiledonlarda vasküler lezyonlar oluşturur; plazantanın bütünlüğünün bozulmasıyla fetüse geçer. Fötal bakteriyemi veya plasentada oluşan lezyonlar sonucunda atık gelişir. *C. fetus subs venearalis* ise atık yanında infertiliteden de sorumludur ^{6,8}. Plasentadan çok dışı genital organlara affinite gösterir ve bu organda gelişen kalıcı bulgular infertilitenin temelini oluşturur ⁶. Gebeliğin ilerleyen dönemlerinde görülen atık ise, gebelik nedeniyle immunitenin baskılanması sonucu etkenin yeniden aktive olup çoğalmasından ve saldırdığı endotoksine karşı gelişen reaksiyondan kaynaklandığı ifade edilmiştir ^{6,8,9}.

Atılan fetüsün karaciğerinde 1-2 mm'den 1-2 cm'e kadar değişen, gelişigüzel yayılmış, değişik sayıda ve açık renkte odaklara rastlanır. Bu lezyonların iç kısmı açık kahvemsî çökük, dış kısmı ise hafif kabarık ve soluk renktedir ^{4,6}. Mikroskopik incelemelerde hepatositlerde karyomegali ile tek hücre nekrozuna veya şiddetli olgularda nekroz odakları ile bu odakların etrafında mononükleer hücre infiltrasyonuna rastlanır ^{4,10-12}. Karaciğer lezyonlarına ilâve olarak karın ve göğüs boşlukları ile perikardiumunda fibrinopurulent eksudat ^{6,10}; bronkopnömoni ve böbreklerde kortikal kanamalar da rapor edilmiştir ^{4,11,12}.

Komplement fiksasyon, floresans antikor, ELISA testlerinin ve vaginal akıntıdan etken izolasyonunun özellikle hastalığın sürüdeki rutin teşhisinde kullanılabileceği kaydedilmiştir ¹³⁻¹⁶. Muz ve ark. ¹³ atık yapmış 110 adet koyun ve keçi serumları üzerinde yaptıkları çalışmada komplemet fiksasyon testi ile %3.6 oranında, Ak ve ark. ¹⁴ infertilite sorunu olan 150 inek ve 100 boğa serumu üzerinde ELISA testi ile yaptıkları çalışmada ineklerde %40.6 oranında, boğalarda %22 oranında kampilobakteriozis yönünden pozitiflik belirlemiştir.

Bu çalışmada sığırlarda atığa neden olan kampilobakteriozisin tanısında patolojik, immunohistokimyasal, mikrobiyolojik ve gerçek zamanlı PZR metotlarının karşılaştırılması ve gerçek zamanlı PZR'nun kampilobakteriozisin tanısında kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmanın materyali Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nün sorumluluk alanındaki illerden

(Osmaniye, Gazi Antep, Kahraman Maraş, Şanlı Urfa, Kilis, Mersin, Hatay) sağlanan 105 adet atık sığır fetüsü oluşturdu. Nekropsiyi takiben fetüslerin akciğer, karaciğer, dalak, abomazum, böbrek, kalp ve beyinden alınan doku örneklerinin yarısı mikrobiyolojik ve PZR muayeneleri için ayrıldı. Diğer yarısı %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Tespit edilen dokular bilinen yöntemlere göre işlendi ve parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler hematoksilin eozin (HE) ve immunohistokimyasal boyamalarda kullanıldı.

Junk ve ark. ¹⁷ bildirdiği yöntemle göre, öncelikle bütün fetüslerin karaciğerlerinde gerçek zamanlı PZR yöntemiyle *Campylobacter ssp*'in nükleik asitleri aranarak pozitif bulunanlar ayrıldı. Diğer dokularından da bu yöntem için örnek alınarak aynı şekilde etken yönünden araştırıldı. Etkenin DNA izolasyonu için MAGNA Pure LC DNA izolasyon Kit III (Roche; kat no: 03 236 785 001) kullanıldı. İzole edilen etkene ait nükleik asitler -80°C'de saklandı. İnceleme aşamasında hazır ticari *Campylobacter* Detection Real Time PCR kiti (Biotecon; kat no: R 300 05) ve Roche LightCycler 2.0 Real Time PCR cihazı kullanıldı. *Campylobacter ssp*. nükleik asitlerinin amplifikasyonu yapıldı ve kalitatif tespiti sağlandı. Pozitif örnekler ve pozitif kontroller için LC640 ve IPC için LC705 kanallarından elde edilen gerçek zamanlı PZR grafikleri ve crossing point (CP geçiş noktası) değerleri incelenerek sonuçlar değerlendirildi. Kampilobakteriozis yönünden negatif bulunan atıklar diğer atık etkenleri açısından enstitünün ilgili laboratuvarlarınca değerlendirildi.

İmmunohistokimyasal inceleme için streptavidin-biotin-peroksidaz kompleksi (SABC) yönteminden yararlanıldı ⁵. 3-aminopropyltriethoxsilane ile kaplı lamlara alınan kesitler, ksilol ve alkol serilerinden geçirildi. Endojen peroksid aktivitesini gidermek için hidrojen peroksidin %70'lik metanoldeki %3'lük çözeltisinde 15 dak. bekletildi. PBS (phosphate-buffered saline; pH:7.3) ile yıkanan kesitler, %0.1'lik tripsin içinde oda sıcaklığında 10 dak. tutuldu ve tekrar PBS ile yıkandı. Üzerlerine 1/150 oranında sulandırılan poliklonal keçi-anti *Campylobacter ssp*. primer antikor (Accurate Chemical & Scientific Corporation; kat no: QRL01-92-93) damlatıldıktan sonra +4°C'lik buzdolabında 1 gece bekletildi. Ertesi gün PBS ile yıkanan kesitler, 1/300 sulandırılan biotinle işaretli tavşan anti-keçi sekonder antikor (Santa Cruz Biotechnology; kat no: sc 2774) ile oda sıcaklığında 30 dak. inkübe edildi. Doku kesitleri yeniden PBS ile yıkayıp üzerlerine 1/300 oranında sulandırılan streptavidin-peroksidaz (Sigma; kat no: S2438-250UG) damlatılarak oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi. Kromojenik substrat DAP (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, Sigma; kat no: D 3939-SET) ile renk reaksiyonu sağlandıktan sonra Mayer'in hematoksilin boyasıyla karşı boyamaya tâbi tutulup alkol ve ksilol serilerinden geçi-

rilip lameller entallen ile kapatılarak ışık mikroskopunda incelendi. Pozitif kontrol olarak mikrobiyolojik yöntemde etken izole edilen atıklardan birine ait karaciğer kesitleri kullanıldı. Bu kesitlere poliklonal keçi-anti *Campylobacter spp.* primer antikoru yerine PBS damlatıldı ve boyama prosedürünün diğer aşamaları aynen uygulandı.

Atık sığır fetüslerinden alınan karaciğer, akciğer, dalak, böbrek, beyin, kalp ve abomasum sıvısından hazırlanan inokulumlar Skirrow besi yerlerine ekilerek 37°C'lik mikroaerobik etüvde inkübasyona tabi tutuldu ve inkübasyon sonrası Kampilobakter benzeri koloniler yönünden makroskopik olarak incelendi. Oksidaz (+) şüpheli koloniler Gram boyama ile boyanarak immer-siyon objektifle mikroskopik muayeneleri yapıldı. Koloniler saf olarak üretilmek amacı ile %7 defibrine koyun kanı içeren kanlı agarda pasajlandı. Bu şekilde elde edilen saf izolatlarda alt tipleri belirlemek amacıyla; hippurat hidrolizi; 37, 25, 42°C'lerde aerobik atmosfer şartlarında üreme; mikroaerofil ortamda üreme; oksidaz, katalaz ve TSI'de üreme; sefalotin (cephalothin, 30 µg), nalidik asit (nalidixic acid, 30 µg) ve glisine (%1) duyarlılık ile üreaz testleri uygulandı.

BULGULAR

Gerçek zamanlı PZR ile kampilobakteriozis belirlenen ve mikrobiyolojik yöntemle *C. fetus subsp fetus* identifiye edilen 3 atığın nekropsisinde, karaciğer loplara gelişigüzel dağılmış ortası açık kahve renkli çökük ve çevresi soluk renkli nekroz odakları (Şekil 1) ile böbrekte peteşiyel kanamalar; akciğerlerde koyu kırmızı renkli alanlar tespit edildi. Dört atıkta ise anılan karaciğer lezyonları sınırları belirgin olmayan solgun alanlar

halindeydi. Gerçek zamanlı PZR ile *Campylobacter spp.* belirlenen atıkların hepsinin karın boşluğunda fibrinli hemorajik eksudat vardı. Ayrıca abomazum içeriğinin de bulanık sarı renkte ve jöle kıvamında olduğu dikkati çekti. İncelenen 105 atıkta karşılaşılan patolojik bulgular ile bunların sayı ve oranları Tablo 1'de verilmiştir.

Histopatolojik incelemede, gerçek zamanlı PZR ile kampilobakteriozis tanısı konulan 7 atığın karaciğerinde yaygın nekroz alanları (Şekil 2A) ile mononükleer hücre infiltrasyonu ve kanama alanları dikkati çekti. Ayrıca bunların 6'sının akciğerinde kataral bronkopnömoni (Şekil 2B); tümünün böbreğinde intertubuler kanama alanları ile tubul epitellerinde dejenerasyon ve deskuamasyon görüldü. İmmunohistokimyasal incelemelerde ise *Campylobacter spp.*, 5 atığın karaciğerindeki nekrotik bölgelerin etrafında (Şekil 2C), böbreklerinin tubul epiteli hücrelerinde, akciğerlerinin interalveolar septumunda kahverenkli pozitif boyanmalar şeklinde izlendi.

Gerçek zamanlı PZR ile atıkların karaciğer, akciğer, böbrek, dalak, kalp, abomasum ve beyin örneklerinden *Campylobacter spp.* nükleik asitlerinin amplifikasyonu yapıldı (Şekil 3). Buna ilişkin elde edilen crossing point değerleri ve ortalamaları Tablo 2'de verilmiştir.

Atık fetüs organlarından ve abomasum sıvısından hazırlanan inokulumların Skirrow besi yerine yapılan ekimlerde toplam 4 olgudan *Campylobacter spp.* izole edildi. Bunlardan 3'ü *C. fetus subsp fetus*; 1'i *C. fetus subsp venearalis* olarak identifiye edildi. İzolatların tümü karaciğer ve abomazum sıvısından, 2'si ise bunlarla birlikte dalak ve akciğerlerden elde edildi.

Kampilobakteriozis belirlenen sığır atıklarından elde

Tablo 1. Sığır atıklarında belirlenen patolojik bulguların sayı ve oranları

Table 1. The counts and the rates of the lesions detected in cattle abortion

Patolojik Bulgu	Adet	Oran %
Makroskobik bulgular		
Vücut boşluklarında fibrinli serohemorajik eksudat	67	63.8
Karaciğerde toplu iğne başı büyüklüğünde sarı-boz renkte nekroz	9	8.5
Kokuşma	26	24.7
Deri altında yaygın ödem	56	53.3
Karaciğerde ortası açık kahve renkli ve çökük çevresi soluk nekroz	5	4.7
Abomasumda sarı bulanık renkli içerik	62	59
Deri üzerinde gri-boz renkli eksudat	1	0.9
İç organlarda peteşiyel kanama	14	13.3
Mikroskobik bulgular		
Karaciğerde fokal nekroz	52	49.5
Kataral bronkopnömoni	43	40.9
Myokarditis	6	5.7
Otoliz	38	36.1
Karaciğerde vakuoler dejenerasyon	4	3.8
Böbreklerde intertubuler kanama	18	17.1
Dalağın beyaz pulpasında atrofi	11	10.4

edilen gerçek zamanlı PZR, immunohistokimyasal ve mikrobiyolojik muayene sonuçları *Tablo 3*'te verilmiştir. Ayrıca 105 olgunun 7'sinde streptokokkozis, 8'inde

brusellozis, 7'inde listeriozis, 1'inde klamidiozis, 1'inde leptospirozis, 3'ünde salmonellozis, 2'sinde toksikozis, 2'sinde IBR ve 1 atıkta da mikozis belirlendi.

Tablo 2. Gerçek zamanlı PZR ile elde edilen crossing point değerleri ve ortalamaları

Table 2. Crossing point values optaining with Real Time PCR and averages

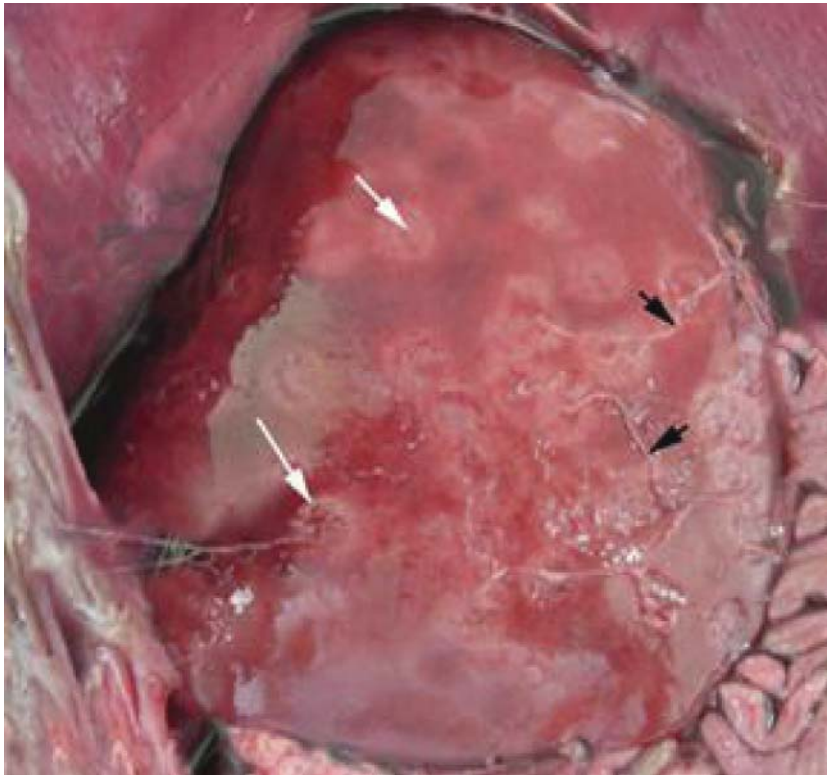
Odak	Karaciğer	Akciğer	Böbrek	Dalak	Beyin	Kalp	Abomazum
1 (Adana)	20.72	24.10	31.28	-	-	-	-
2 (G.Antep)	21.15	28.98	-	-	-	-	-
3 (Hatay)	19.98	22.02	28.04	28.91	32.14	28.34	24.32
4 (Kilis)	19.45	23.14	29.85	27.61	33.59	28.56	24.90
5 (Kilis)	25.26	29.35	32.78	-	-	-	-
6 (Kilis)	20.78	23.15	30.23	-	-	-	-
7 (Mersin)	27.45	28.45	-	-	-	-	-
ORTALAMA	22.11	25.59	30.4	28.26	32.86	28.45	24.61

Tablo 3. *Kampilobakteriozis* belirlenen sığır atıklarından elde edilen gerçek zamanlı PZR, immunhistokimyasal (IH)ve mikrobiyolojik(M) muayene sonuçları

Table 3. The detected as campylobacteriosis in the aborted bovine foetuses obtening to conclusion of exemination by real time PCR, Immunohistochemistry (IH) and microbiological (M) method

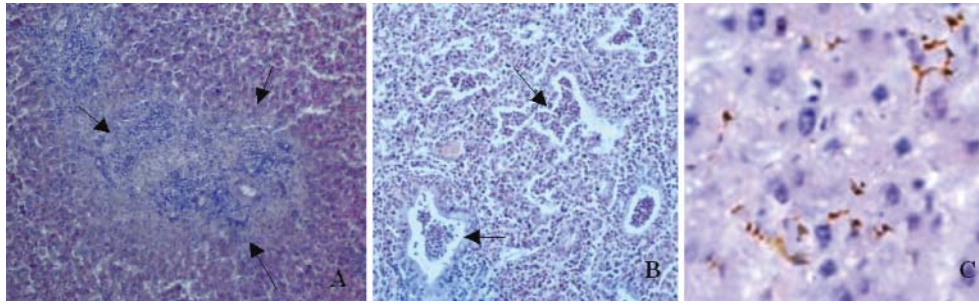
Odak	Karaciğer			Akciğer			Böbrek			Dalak			Beyin			Kalp			Abomazum			
	PZR	İH	M	PZR	İH	M	PZR	İH	M	PZR	İH	M	PZR	İH	M	PZR	İH	M	PZR	İH	M	
1 (Adana)	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 (G.Antep)	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3 (Hatay)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+
4 (Kilis)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+
5 (Kilis)	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
6 (Kilis)	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7 (Mersin)	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

PZR: Gerçek zamanlı PZR, **İH:** İmmunhistokimyasal, **M:** Mikrobiyolojik



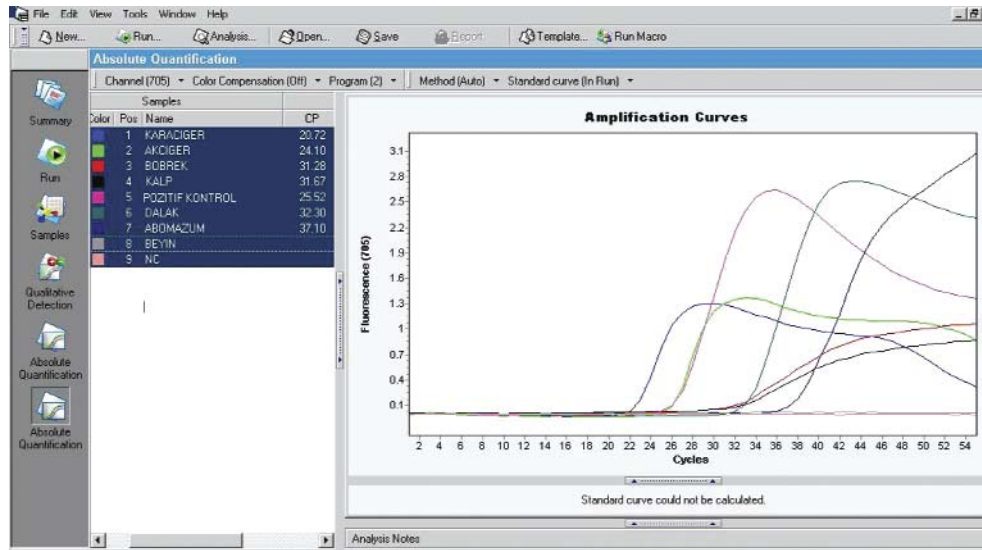
Şekil 1. Karaciğerde ortası açık kahve renkli ve çökük çevresi soluk nekroz odakları (Beyaz oklar) ile organın yüzeyinde fibrin kitleleri. (siyah oklar)

Fig 1. Inside the light-colored light brown and sunken around the necrosis, liver (White arrows), fibrin (Black arrows)



Şekil 2. A. Karaciğerde fokal nekroz (oklar), HE, x200; **B.** Akciğerin alveol ve bronşiollerinde nötrofil leukosit ve makrofaj infiltrasyonu (oklar), HE, x200; **C.** Karaciğerde immunoperoxidase incelemede keçi anti campylobakter fetus primer serumu ile pozitif reaksiyon veren etkenler, SABC, x900

Fig 2. A. Focal necrosis in the liver (arrows) HE, x200 **B.** Neutrophyl leucocyte and macrophage exudation within the alveol and bronchiolar lumina HE x200 **C.** Immunoperoxidase examination in the liver with goat anti *Campylobacter fetus* primary serum the agents that give positive reaction SABC x900



Şekil 3. Gerçek zamanlı PZR ile kampilobakteriozise ilişkin atık dokularından elde edilen amplifikasyon eğrileri

Fig 3. Amplification curve in aborted fetuses due to campylobacteriosis using Real Time PCR

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kampilobakteriozisin klinik belirtileri atipik olduğundan laboratuvar tanısı daha çok önem kazanmıştır^{10,11}. Bu bağlamda, sunulan çalışmada da saptandığı üzere, atık fetüslerin nekropsileri sırasında karaciğerde karşılaşılan 1-2 cm'ye varan, merkezleri çökük ve soluk kahve renkli, çevreleri hafif kabarik ve beyazımsı nekroz odakları hastalığı düşündürse de ayırıcı tanıda brusellozis, listeriozis, salmonellozis gibi diğer hastalıkların da göz ardı edilemeyeceği belirtilmiştir^{4,6}. Histopatolojik incelemede karaciğerlerdeki yaygın nekroz alanları ile mononükleer hücre infiltrasyonu ve kanamalar ise sıradan bulgu olarak değerlendirilmiştir^{4,10-12}. Bu nedenle patolojik tanının etken izolasyonu yanında immunohistokimyasal ve diğer yöntemlerle desteklenmesi gereğine dikkat çekilmiştir¹³.

Serolojik testler hastalığın kesin tanısından ziyade sürüdeki subklinik olguların taranması amacıyla kullanılır¹⁴⁻¹⁶. Öte yandan *C. fetus subsp fetus*'üne benzeyen O1 antijenine sahip diğer kampilobakter suşlarının aynı reaksiyonu vermesi bu testlere tercihi azaltmıştır¹⁵. Etken izolasyonu ve identifikasyonuna yönelik mikrobiyolojik yöntemler uzun zaman alır; laboratuvara getirilen atıkların çoğu kez kokuşmuş ya da dondurulmuş olması ise tanıyı engelleyen faktördür^{18,19}. Mikrobiyolojik incelemede *Campylobacter ssp*, izolasyonunun 4 (%3.8) fetüsten gerçekleştirilmesine karşılık gerçek zamanlı PZR ile 7 (%6.6) fetüste etkenin nükleik asitlerinin belirlenmesi, mikrobiyolojik yöntemlerin hastalığın tanısında çok duyarlı olmadığını ortaya koymuştur.

Enfeksiyöz hastalıkların tanısında, dokularda etken antijeninin belirlenmesini hedefleyen immunohistokimyasal

yöntemler güvenilir olmakla birlikte, bunların otolitik ve putrefaktif dokulara uygulanmadığı¹⁸; halbuki etkene özgü nükleotidlerin belirlenmesi esasına dayanan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemlerinin böyle dokularda da uygulandığı^{20,21}; çünkü otoliz ve putrefaktif değişikliklerde etkenlerin nükleotid yapılarının antijenik yapılarına göre daha uzun süre dayanıklı kaldığı kaydedilmiştir²⁰. Nitekim bu çalışmada gerçek zamanlı PZR ile pozitif bulunan 2 olgunun immunohistokimyasal incelemede negatif sonuç vermesi, otolizin bakteri antijenleri üzerindeki olumsuz etkisini düşündürmüştür.

Bu çalışmada gerçek zamanlı PZR ile 7 fetüsün tamamının karaciğer ve akciğerinde; bunlardan 5'inin böbreğinde, 2'sinin de dalak, beyin, kalp ve abomasumda *Campylobacter ssp.* nükleik asitleri belirlenmiştir. Immunohistokimyasal incelemede ise aynı fetüslerin dalak, beyin, kalp ve abomasumda etken antijeni tespit edilememiştir. Böbreklerdeki pozitiflik her iki yöntemde birbiriyle örtüşürken bir olguda gerçek zamanlı PZR ile pozitif görülen karaciğer ve akciğer immunohistokimyasal incelemede negatif çıkmıştır. Bu veriler, gerçek zamanlı PZR'in dokularda çok düşük miktarda bulunan etkenleri bile belirleyebilme duyarlılığına sahip olduğunu kanıtlamıştır. Gerçek zamanlı PZR ile atık sığır fetüsü dokularından elde edilen crossing point değer ortalamaları incelendiğinde; karaciğer, akciğer ve abomasumdan elde edilen değerlerin diğer dokulara göre daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum, bu organlardaki *Campylobacter ssp.* nükleik asit miktarının diğerlerine göre daha fazla olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Anılan organlardan mikrobiyolojik olarak etkenin izole edilmesi de bu düşüncüyü desteklemiştir.

Sonuç olarak, sığırların önemli atık etkenlerinden sayılan *Campylobacteriozisin* patolojik, immunohistokimyasal, mikrobiyolojik ve gerçek zamanlı PZR ile yapılan karşılaştırmalı tanısında: Gerçek zamanlı PZR'nin daha duyarlı olduğu ve kısa sürede sonuç verdiği; ancak, bu imkana sahip olmayan laboratuvarlarda immunohistokimyasal yöntemlerin de mikrobiyolojik yöntemler kadar güvenle uygulanabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Peter AT:** Abortions in dairy cows: New insights and economic impact. *Adv Dairy Technol*, 12, 233-244, 2000.
- Kirkbride CA:** Bacterial agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagn Invest*, 5 (1): 64-68, 1993.
- Ünver A, Erdoğan HM, Atabay Hİ, Şahin, Güneş V, Çitil M, Gökçe Hİ:** Sığır atıklarından izole edilen brucella türlerinin RAPD-PCR ile genotiplendirilmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 12 (2): 121-127, 2006.
- Sağlam YS, Türkütanıt SS, Taştan R, Bozoğlu H, Otlı S:** Kuzeydoğu Anadolu Bölgesinde görülen bakteriyel sığır ve koyun abortlarının etiolojik ve patolojik yönden incelenmesi.

Selçuk Univ Vet Bil Derg, 14 (2): 133-145, 2002.

- Campero MC, Anderson ML, Walker RL, Blanchard PC, Barbano L, Chiu P, Martinez A, Combessies G, Bardon JC, Cordeviola J:** Immunohistochemical identification of *Campylobacter fetus* in natural cases bovine and ovine abortion. *J Vet Med B*, 52, 138-141, 2005.
- Hazıroğlu R, Milli Ü:** Veteriner Patoloji. Cilt II, Tamer Matbaacılık, Ankara. 1998.
- Larson BL:** Diagnosing the cause of bovine abortions and other perinatal deaths. *Vet Med*, 478-486, 1996
- Jeffrey M, Hogg RA:** Concurrent bovine virus diarrhoea virus and *Campylobacter fetus* infection in an aborted bovine fetus. *Vet Rec*, 4, 89-90, 1988.
- Saurwein RW, Bisseling J, Horrevorts MA:** Septic abortion associated with *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* infection. *Infection*, 21, 331-335, 1993.
- Hoffer MA:** Bovine campylobacteriosis. *Can Vet J*, 22, 327-330, 1981
- Jerret IV, McOrist S, Waddington J, Browning JW, Malecki JC, McCausland IP:** Diagnostic studies of fetus, placenta and maternal blood from 265 bovine abortion. *J Vet Diagn Invest*, 4 (2): 175-180, 1992.
- Donkersgoed J, Janzen ED, Chirino-Trejo M, Berry C, Clark EG, Haines DM:** *Campylobacter jejuni* abortions in two beef cattle herds in Saskatchewan. *Cornell Vet*, 74 (1): 8-20, 1984.
- Anderson ML, Blanchard CP, Barr CB, Hoffman LR:** A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. *J Vet Diagn Invest*, 2, 283-287, 1990.
- Muz A, Ertaş HB, Öngör H, Gülcü HB, Özer H, Eröksüz H, Dabak M, Başbuğ O, Kalender H:** Elazığ ve çevresinde koyun ve keçilerde abortus olgularının bakteriyolojik serolojik ve patolojik olarak incelenmesi. *Tr J Vet Anim Sci*, 23 (1): 177-188, 1999.
- Ak S, Turan N, Ak K, İleri K, Ilgaz A:** Use of ELISA, IFA, and avidin-biotin staining for the diagnosis of bovine genital campylobacteriosis. *Tr J Vet Anim Sci*, 24, 113-121, 2000.
- Pellegrin AO, Lage AP, Sereno JRB, Ravaglia E, Costa MS, Leite RC:** Bovine genital campylobacteriosis in pantanal, state of Mato Grossa do Sul, Brazil. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop*, 55 (3): 169-173, 2002.
- Hong J, Junk WK, Kim JM, Kim SH, Koo HC, Ser J, Park YH:** Quantification and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in raw chicken meats using a real-time PCR method. *J Food Prot*, 70 (9): 2015-2022, 2007.
- Campero CM, Moore DP, Odeon AC, Cipolla AL, Odriozola E:** Aetiology of bovine abortion in Argentina, *Vet Res Commun*, 27 (5): 359-369, 2003.
- Pritchard G:** Diagnosing the cause of bovine abortion. *In Pract*, 12 (3): 92-95, 1990.
- Türkyılmaz S, Esendal MÖ:** Polimeraz zincir reaksiyonu ve mikrobiyolojide kullanım alanları. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 8 (1): 71-76, 2002.
- Kulkarni SP, Lever S, Logan JM, Lawson AJ, Stanley J, Shafi MS:** Detection of campylobacter species: A comparison of culture and polymerase chain reaction based methods. *J Clin Pathol*, 55, 749-753, 2002.