

VET 302
ÖZEL MİKROBİYOLOJİ II DERSİ
UYGULAMA KİTAPÇIĞI



2021

Uygulamanın adı	Biyogüvenlik uygulamaları, Pasteurella ve Mannheimia türlerinde gram boyama ve mikroskopik inceleme
Yapılacağı hafta	1
Uygulamanın temel hedefi	Pasteurella ve Mannheimia türlerinde gram boyama ve mikroskopik inceleme
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ
•Pasteurella'lar Gram negatif, kokoid, oval, kısa küçük çomaklar ve bazen filamentler tarzında görünümüne sahiptirler. •İnfekte dokulardan yapılan sürme preparatlarda karakteristik bipolar tarzda boyanırlar. •Aerob ve fakültatif anaerob koşullarda kolayca üreyebilirler. •Genel besi yerlerinde pek iyi üreme göstermemelerine karşın, kan ve serum içeren besi yerlerinde daha kolay gelişirler. Katı besi yerlerindeki kolonileri küçük boyuttadır. •Hafif veya orta şiddette bir asit oluşturmak suretiyle gaz yapmaksızın, karbonhidratları fermente ederler. •Nitratları nitritlere dönüştürürler. •Oksidaz ve katalaz testi pozitifdir. •Sütü koagüle etmezler ve jelatini eritmezler. •Ekzotoksinleri çok az patojenik olup endotoksinleri vardır. •Yeryüzünde çok yaygın olarak bulunurlar ve hayvanlar arasında büyük solunum yolu patojenleri olarak kayıplara ve ekonomik zararlara neden olan hemorajik, sepsisemik hastalıklara neden olurlar. Patogenesis •Pasteurella'lar vücuda girdikleri yerlerde yani infeksiyon bölgesinde çoğalarak dolaşım sistemine girerler. • •Kan damarlarında üreyen mikroorganizmalar damar cidarının zedelenmesine, kanın dışarı sızmasına (hemorajilere) neden olurlar. Kan vs. dokularda mikroorganizmalar çok çabuk üreyerek hayvanın 12-24 saat gibi kısa bir zamanda ölümüne (sepsisemi) yol açarlar. •Uzun süren olaylarda iç organlarda bakterinin ürediği ve yerleştiği yerlerde nekrotik odaklara rastlanır. Patogenesis •Pasteurella infeksiyonlarında, genellikle, süregen durumlarda diğer bakteriler de (Strep-tokok, Stafilokok, Korinebakteriler v.s.) işe karışarak sekonder olarak rol

oyunlar ve hastalığın seyrinin değişmesine ve hem de prognozun ağırlaşmasına sebep olurlar.

- Bazen de tersi olur ve Pasteurella'lar sekonder olarak infeksiyonlarda bulunurlar. Bu durumun teşhisten önemi fazladır.

- Pastörellozda etkenin bu kadar çabuk çoğalması ve yayılmasında "agresin'lerin" rol oynadığı ileri sürülmektedir. Agresinler fagositoza ve bakteriolizise engel olduklarından vücudun direnci çabuk kırılmaktadır.

Klinik Belirtiler

- Hastalık sığırlarda akut, subakut ve kronik tarzda seyreder.

- 1- Akut (septisemik) form,

- 2- Subakut (ödemli) form,

- 3- Kronik (pektoral) form.

- 1-Akut (septisemik) form:** Bu formda hastalık aniden başlar ve kısa zaman içinde hayvanları öldürür. Bu nedenle de genellikle semptomlara rastlamak mümkün olmaz.

- Hastalarda vücut ısı 40°C' nin üstüne çıkar.

- Nabız zayıflamış, hayvanlar durgun iştahsızdırlar.

- Mukozalar siyanoz bir durumdadır. Sonraları kolik ve ishal gözlenir.

- Gaita önceleri suludur, sonraları kan izleri içerir.

- Hastalığın diğer semptomları arasında epitaksis ve hematuria da vardır. Hastalık ya bu şekilde seyreterek hayvanın ölümüne neden olur veya diğer şekiller meydana gelir.

- Nekropside:** Ölümden sonra kaslarda, akciğerlerde, mukoz ve seröz membranlarda fazla derecede hemorajiler ve iç organlarda hiperemiler göze çarpar. Lenf yumruları şişmiş ve ödemlidir. Kesit yüzleri kırmızı renktedir. Akciğerlerde hemorajik odaklara rastlanır. Karaciğer ve böbreklerde çok hafif bir büyüme görülebilir. Seröz kaviteelerde kanlı bir eksudat bulunur.

- 2- Subakut (ödemli) form :** Bu hastalık tablosuna subakut olgularda tesadüf edilir.

- Hayvanda baş, boyun, göğüs bölgesinde ve gittikçe yayılma eğiliminde olan ödemler meydana gelir. Ödemler anus, genital organlar, dil, bacaklar ve eklemlerde de görülebilir.

- Ödemli yerlerdeki deri gergin, sıcak ve ağrılıdır.

- Gözlerde akut konjonktivitis ve lakrimasyon bulunur.

- Bukkal mukoza hiperemik ve ağrılıdır. Dil şişmiş ve ağrılı bir hal almıştır. Rengi koyu kırmızı esmerdir. Hayvan yutkunamaz ve salyası ağızdan akar.

- Barsakta hemorajik bir enterit bulunur.

- Hayvanlar asfeksi veya kanlı ishal sonucu meydana gelen bitkinliklerden ölürler.

- Nekropside;** vücuttaki ödemli bölgelerde, deri altında hemorajik bir infiltrasyon bulunur. Dil siyanozi renkte, sert ve büyümüştür. Kesilince içinden sarı-seröz bir sıvı akar. Retrofarangial ve servikallenf yumrularında; akut bir şişme gözlenir.

- Abomasum ve ince barsaklarda hemorajik bir enterit vardır. Barsak içeriği kanlıdır.

- 3-Kronik (pektoral) form:** Hayvanın derecesi 40-41°C' ye çıkar, solunum kısa ve hızlıdır; hayvanın genel durumu bozulmuştur.

- Hayvan kuru ve ağrılı bir şekilde öksürür.

- Burundan önce mukoz sonraları mukopurulent ve kanlı bir akıntı gelir.

- Akciğerlerde krepatasyon duyulur.

- Başlangıçta bir kabızlık sonra' yerini hemorajik bir ishale bırakır ve hayvan bitkinlikten ölür.

- Nekropside;** Vücuttaki ödemli bölgelerde, deri altında hemorajik bir infiltrasyon bulunur. Dil siyanozi renkte, sert ve büyümüştür. Kesilince içinden sarı-seröz bir sıvı akar. Ön ve üst solunum yollarında kataral bir yangı bulunur. Retrofarengial, servikallenf yumrularında; akut bir şişme müşahade edilir. Abomasum ve ince bağırsaklarda hemorajik bir enterit vardır.

•Afettede akciğer bölgesi sertleşmiş, kesit yüzü koyu kırmızı-esmer veya kırmızıgri bir manzara arz eder. İnterlobuler septa kalınlaşmış olduğundan damarlı bir mermer manzarası görünümündedir. Bu duruma kontagiyöz pleurapnömonida da rastlanır. Akciğerin diğer kısımları hiperemik ve ödemlidir.

- **Laboratuvar muayeneleri**

- **1-Bakteriyoskopi:** Akut olaylarda, mikroorganizma her yerde bulunduğu için, gönderilen kalp kanı, ödem sıvıları, dalak, karaciğer, kemik iliği ve dokulardan preparatlar hazırlanarak Giemza ile boyanır ve frotide bipolar mikroorganizmalar aranır. Kronik olgularda mikroorganizmalar daha ziyade organlarda lokalize olmuşlardır. Frotilerde bipolar mikroorganizmaların görülmesi ile kesin teşhis konamaz.

- **2-Kültür:** Gönderilen marazi maddelerden petri kutularındaki kanlı agara veya diğer serumlu ve özel besi yerlerine ekimler yapılarak 37°C'de 24-48 saat bırakılır. Üreyen mikroorganizmaların koloni morfolojileri, mikroskopik morfolojileri ve biyokimyasal özellikleri incelenir.

- **3-Hayvan deneyi:** Gerek gönderilen marazi maddelerden ve gerekse izole edilen mikroorganizmalardan fare ve güvercine şırıngalar yapılır. Hayvanlar virulent şuşlar 24-48 saat içinde ölürler. Ölen hayvanın kanından froti ve ekimler yapılarak teşhis doğrulanır. Tavşanlar da *P.multocida* infeksiyonlarına hassastırlar.

•*M.haemolytica* koyun, sığır ve domuzlarda enzootik pnömonilere neden olur.

•Son yıllarda yapılan toksonomide *Pasteurella haemolytica*, *Mannheimia* cinsi içerisinde yer almıştır. *P. haemolytica*'nın biotip A'sı, *Mannheimia haemolytica* olarak kabul edilmiştir.

Etiyoloji

•*M. haemolytica* taze izole edilmiş kültürlerde *P. multocida* ile aynı morfolojik özelliklere sahiptir.

•Gram negatif hareketsiz, sporsuz, kapsüllü çomakçıklar halinde gürülür.

•Metilen mavisi veya Giemsa ile boyanan bipolar karakteri farkedilirse de *P. multocida* kadar bariz değildir.

•Laboratuvarda adi besiyerlerinde kolayca ürer.

•Buyyonu homojen olarak bulandırır ve tüpün dibinde tortu oluşturur.

•Katı besi yerlerinde 24 saat içinde kenarları yuvarlak, nemli ve parlak koloniler meydana getirir.

•At, koyun ve tavşan kanlı agarında beta hemoliz oluştururlar. Bu özellik besi yerlerinde devamlı pasajlar ile azalır, fakat hayvan pasajları ile tekrar kazanılır.

Klinik Belirtiler

•Mikroorganizma kuzularda septisemilere neden olur.

•Akciğerlerde pleuresie ve plöra üzerinde fibrin oturması göze çarpar. Akciğerler kostalara yapışık bir hal alabilirler.

•Akciğerlerde lenf yumruları hiperemik ve ödemlidir.

•Seröz ve mukoz membranlarda hemorajiler vardır.

•Plöra ve periton boşluğunda eksudat bulunur. Bu sıvı içinde fazla miktarda mikroorganizmaya rastlanır.

•*M.haemolytica* koyun, sığır ve domuzlarda enzootik tarzda seyreden pnömonilere neden olduğu gibi, koyunlarda gangrenöz mastitislere de yol açar.

•*M. haemolytica*'dan ileri gelen infeksiyonlar çok sayıdadır. Bu nedenle büyük ekonomik zararlara neden olmaktadır. Hastalık kuzularda septisemi, koyun ve sığırlarda ise plöra-pnömonia tarzında seyir takip eder. Prognozu *P.multocida*'daki gibidir.

- Teşhis**

- P. multocida*'daki teşhis yöntemleri burada da aynen uygulanır.

- Sağaltım**

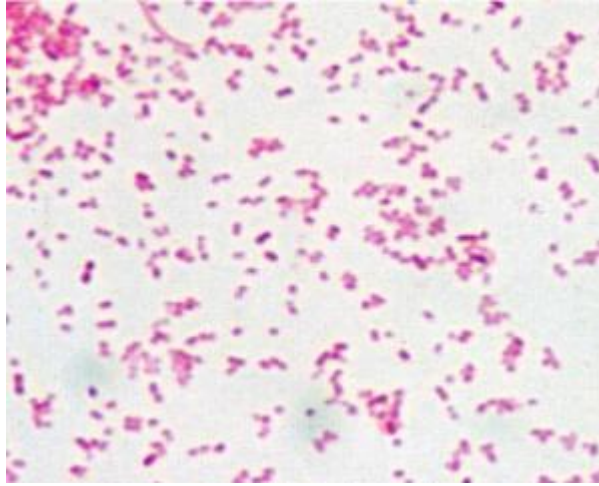
- Sülfanamid ve antibiyotiklerle hastalar tedavi edilebilirler.

-

- Koruma**

- 1-Aktif immunizasyon:** Hem monovalan bakteriler (*M. haemolytica*) ve hem de polivalan bakterilerle (*P. multocida* ve *M. haemolytica*) aktif immunizasyon sağlanabilir.

- 2-Pasif immunizasyon:** Hiperimmun serumlarla olur. Gerek hasta hayvanlara ve gerekse profilaktik olarak kullanılabilirler.



Pasteurella türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Haemophilus ve Actinobacillus türlerinde gram boyama ve mikroskopik inceleme
Yapılacağı hafta	2
Uygulamanın temel hedefi	Haemophilus ve Actinobacillus türlerinde gram boyama ve mikroskopik inceleme
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ
• Hemofilus enfeksiyonları, hemofilus grubu mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen enfeksiyonlardır. • Hemofilus grubu mikroorganizmaların özellikleri laboratuvarı hazırlanan yapay besi yerlerinde ürememeleridir. Ancak, kanda bulunan iki büyüme faktörünü içeren besi yerlerinde üremektedirler. Bu grup mikroorganizmaların üreyebilmeleri için tam kana gereksinimleri nedeniyle bu gruba hemofilus adı verilmiştir. • Hemofilus grubu mikroorganizmalar insan ve çeşitli hayvanlarda özel enfeksiyonlara yol açarlar ve ayrıca çeşitli enfeksiyonlara katılırlar. • Hayvanlarda görülen özel hemofilus enfeksiyonlarından önemli olanları, – Tavukların enfeksiyöz korizası, – Koyunların bronkopnömonisi ve – Domuzların influenzası' dır. – Köpeklerin prepişyum eksudatlarından ve bronkopnömonilerinden de izole edilmiştir. • Hemofiluslar çok küçük çomak veya kokobasillerdir. Boyutları 0.3-0.5 x 1.5 mikrometre kadardır. • Boyalı preparatlarda tek tek veya ikışer görülürler. Eski ve çok pasaj edilmiş kültürlerde pleomorfik filamentler görülmektedir. • İlk izolasyonda kimi hemofiluslar kapsül oluşturur. Ancak, oluşan kapsüller filamentlerin teşekkülü ile kaybolurlar. • Sporsuz ve hareketsizdir. • Boyalarla kolay boyanmazlar. Sulu karbolfuksin ile boyanır. Gram negatiftir. • İyi bir Gram reaksiyonu için sulu karbolfuksin kullanılmalıdır. • Hemofiluslar aerobiktir ve çoğu zaman anaerobik koşullarda da ürerler. • Laboratuvarlarda üreyen mikroorganizmalardan farklı bir üreme gereksinimi gösterirler. İzolasyon için kullanılan yapay besi yerlerinde X ve V faktörlerinden biri veya her ikisinin bulunması zorunludur. • X büyüme faktörü haemin tabiatında bir maddedir. Isıya dayanıklı olan bu büyüme faktörü kanda bulunur.

- Y büyüme faktörü bir koenzimdir.
- Difosfopyridine nükleotid (DPN) veya nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) koenzimi olan V faktörü ısıya dayanıklı değildir.
- Kanda bulunur. 70-80°C' ye kadar ısıtılan kanda serbest hale geçer. Bu özelliği nedeniyle ısıtılmış kanlı agar (çikolata agar) hazırlanırken besi yeri 70-80°C'de iken kan katılarak V faktörünün serbest hale geçmesi sağlanmaktadır.
- V büyüme faktörü Stafilokoklar tarafından sentezlenen bir enzimdir.
- Bu özellik hemofiluslar ile Stafilokokların aynı besi yerinde üremeleri sırasında satelite fenomeninin oluşmasına yol açmaktadır.

•Üremeleri için V büyüme faktörüne gereksinim duyan hemofiluslar, bu enzimi sentezleyen Stafilokoklarla birlikte katı besi yerlerine ekildiklerinde karakteristik bir üreme meydana gelmektedir.

•Stafilokok kolonilerine yakın oluşan hemofilus kolonileri daha bol ürer ve daha belirgin koloniler oluştururlar. Bu olay satellatizm olarak bilinmektedir.

•Hemofilusların daha bol üreyerek belirgin koloniler oluşturmaları, yakınlarında üreyen Stafilokokların üremeleri sırasında hemofilusları gereksinimleri olan V büyüme faktörü sentezlemeleri ve ortama yaymalarından ileri gelmektedir. Stafilokoklar tarafından sentezlenen büyüme faktörü stafilokok kolonilerinin hemen yakınlarına kadar yayılabildiğinden ancak stafilokok kolonilerinin çok yakınında bulunan hemofiluslar bu enzimlerden yararlanmakta ve daha bol bir üreme göstermektedir.

- Hemofilusların üremeleri için gerek duydukları X ve V faktörleri kanda bulunur.
- Özel olarak hazırlanan çikolata agarda hemofiluslar bol ürer ve çok küçük şeffaf koloniler oluştururlar.
- Özel olarak hazırlanan Levinthal besi yeri ve Filles besi yerinde hemofiluslar, çikolata agarda olduğu gibi, bolca üremektedir. Bu besi yerleri ısı ile veya peptik enzimlerle parçalanmış alyuvarlarla hazırlanan besi yerleridir.

•Hemofiluslar dış etkilere dirençsizdir. 55°C'de 30 dakikada in aktive olurlar.

•Kapsüllü *H. influenza* suşları 6 serotipe ayrılmaktadır. Ayrımı kimyasal yapısındaki özelliklere göre yapılmıştır. Kapsülsüz olan suşlar antijenik olarak heterojendir.

•*H. parasuis*'in 12'den fazla serotipi, *H. somnus*'un 15 serotipi ve *H. paragallinarum*'un yaklaşık 9 serotipi tanımlanmıştır.

- Ruminantlarda baş ve yumuşak dokuların, özellikle dil, dudak, farengeal ve maksiller lenf yumrularının şişmesi, apseleşmesi ve granülasyon dokusunun oluşması ile karakterize olan kronik infeksiyöz bir hastalıktır.
- Hastalığın etkeni *Actinobacillus lignieresii*'dir. Etken aynı zamanda barsakların ve ağız boşluğunun bir komensalidir.
- Etiyoloji
- Hastalığın etkeni olan *Actinobacillus lignieresii*'nin bireysel ve koloni morfolojisi ürettiği ortama (sıvı ve katı), inkubasyon süresine göre değişiklik gösterir.
- Katı ortamlarda kokkobasil görünümüne ve pleomorfizme fazla rastlanır.

- Sıvı besi yerlerinde ve eski kültürlerde filamentöz formlarla karşılaşılır.
- A. lignieresii'nin* boyutları 0.4x1.2 mikrometre (filamentler 15 mikrometre) olup,
- Gram negatif aerobik (veya mikroaerofilik), hareketsiz, sporsuz ve kapsülsüz bir mikroorganizmadır.
- Aerobik karakter gösteren etken, mikroaerofilik koşullarda (%10 CO₂'li) daha iyi gelişir.
- Asidorezistans değildir ve bipolar boyanma özelliğine sahiptir.

Etiyoloji

- Katı ortamlarda 37°C'de 24 saat içinde 1-1.5 mm çapında, küçük, yuvarlak, üzerleri düzgün, mavimsi-gri ve parlak koloniler meydana gelir.
- Zamanla koloniler gelişir, kenarları çentikli olur ve 4 mm çapına ulaşır.
- Serum, kan ve %10 CO₂ üreme üzerine olumlu etki yapar.
- Serumlu sıvı ortamlarda, kısa süre içinde (24 saatte) bol ve granüllü bir üreme gösterir ve dipte tortu meydana gelir.
- Tüpün üst kısmı berrak kalır.

Etiyoloji

- Vücuttaki lezyonlarda ve irinlerde de mikroorganizmaya küçük, esmer-beyaz renkteki granüller içinde rastlanır.
- Bunlar aktinomikoz granüllerine benzerler. İki lam arasında ezilerek boyandıktan sonra mikroskop altında muayene edilen granüllerin ortasında Gram negatif çomaklar, buradan dışarı doğru uzanan Gram negatif, oval veya şişe şeklinde mantar elementleri görülür.
- Aktinomikozisde ortada Gram pozitif difteroid mikroorganizmalar bulunur.

Teşhis

-Laboratuvar Muayeneleri Lezyonlardan gönderilen irin materyali laboratuvar muayeneleri için yeterlidir.

•1-Bakteriyoskopi: Cerahattan bir miktar alınarak petri kutusundaki steril tuzlu suya konur ve hafif karıştırılarak granül aranır. Granüller iki lam arasında ezilir ve lamlar Gram boyama yöntemi ile boyanırlar. Ortada Gram negatif mikroorganizmalar ve buradan dışarı doğru uzanan Gram negatif mantar elementleri Aktinobasillozis'den şüphelendirir. Natif muayene için bir granül lam üzerine konur ve buna 2-3 damla %10 NaOH damlatılır. Üzerine lamel konularak bastırılır ve ezilir. Küçük büyütme ile muayene edilir.

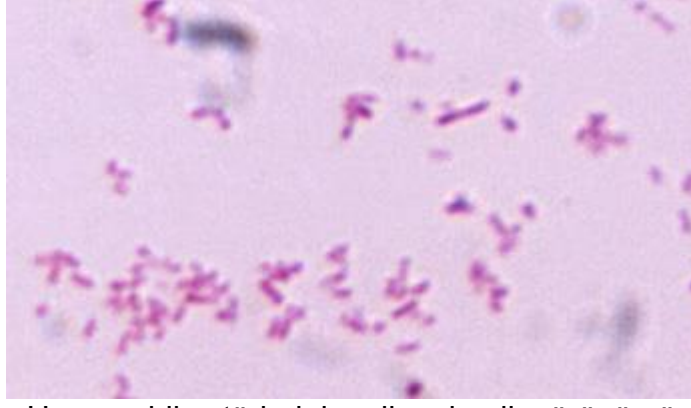
Teşhis

•2-Kültür: Yıkanmış granüllerden 6-7 tane alınarak, steril bir saat camı içinde (veya lam üzerinde) ezilir. Buradan Mac Conkey agar ve kanlı agar gibi katı besiyerleri ile sıvı ortamlara ekimler yapılır. Aerobik ve ayrıca mikroaerofilik (%10 CO₂) koşullarda kültürü yapılır. Üreyen koloni ve kültürler *Actinobacillus lignieresii* yönünden incelenirler.

•

•3-Hayvan deneyi: Şüpheli kolonilerden veya granüllerden yapılan süspansiyonlardan erkek kobayların peritonu içine şırınga edilir. Hayvanlarda Strauss reaksiyonuna benzeyen orşit teşekkül eder ve 7-8 günde ölürler. Buradaki lezyonlardan froti ve kültürler yapılır.

•4- Serolojik testler: Hayvanlarda serolojik teşhise yeterli oranda antikorlar oluşmaz.



Haemophilus türlerinin mikroskopik görünümü



Actinobacillus türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Taylorella ve Bordotella türleri ve Gram boyama ile incelenmesi, kolonilerinin incelenmesi
Yapılacağı hafta	3
Uygulamanın temel hedefi	Taylorella ve Bordotella türleri ve Gram boyama ile incelenmesi, kolonilerinin incelenmesi
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ
■ Hastalığın etkeni, Alcaligenaceae familyası içerisinde yer alan Taylorella cinsine ait yeni bir tür olan <i>T.equigenitalis</i>'dir. ■ Gram negatif, hareketsiz, sporsuz, aside dayanıksızdır ve etrafında belli bir kapsülü yoktur. ■ Boyalı preparatlarda kokoid, kokobasil ve çok küçük çomakçıklar halinde görülürler. ■ Mikroorganizma en iyi 37°C'de mikroaerofilik koşullarda (%5-10 CO₂'li) ve çikolata agar üzerinde üremektedir. ■ At kanında (%5-10) hazırlanan Eugon çikolata agarı (at kanı 80°C'de 10 dakika ısıtılarak), izolasyon ve üretmek için uygun bir besi yeridir. ■ Etken çikolata agar üzerinde 48 saat içinde gözle görülebilecek büyüklükte, 0.3-1 mm çapında, kenarları düzgün, yuvarlak, parlak, kokusuz, konveks ve gri-beyaz renkte koloniler meydana getirir. ■ Enfeksiyonun bir bölgeden diğerine veya bir ülkeden öbürüne bulaşmasında ■ infekte hayvanların, ■ portörlerin, ■ gizli infektelerin, ■ sağlam görünüşlü taşıyıcıların rolleri önemlidir. ■ Dişilerin klitoral fossa ve klitoral sinusları da fazla miktarda etken barındırmaktadır. ■ Aygırlarda, özellikle, prepisyum, penis, fossa uretra ve preejakulatör sıvısında mikroorganizma bulunmaktadır. Ancak mikroorganizmayı esas olarak üretal fossanın barındırdığı ve buradan diğer kısımların bulaşacağını bildiren araştırmacılar da vardır. ■ Erkekler, genital organlarının çeşitli yerlerinde etkeni taşımalarına karşın herhangi bir klinik belirti göstermezler. ■ Enfekte olmuş damızlıklar ve kısıraklar hastalığın temel rezervuarlarıdır. Enfeksiyonun bakteriyle bulaşması, genellikle, koitus esnasında meydana gelir. ■ Doğal enfeksiyonlar sonu yavru atma bildirilmemiştir. ■ Enfekte hayvanlarda da gebe kalma oranı çok düşer (%35-37) ve bu durum da büyük ekonomik kayıplara yol açar. ■ Enfeksiyona ilk kez yakalanan dişilerde, ikinci veya daha sonraki hastalık durumlarına oranla, çok daha belirgin bir klinik tablo gelişir. Hastalığı geçirenlerin kanlarında antikor olmasına karşın, bunun koruyucu olarak hiç bir rolü olmamakta ve hayvanlar ikinci kez tekrar hastalanabilmektedirler, Ancak, bu son hastalık daha az belirgin olmakta ve kısa sürede iyileşmektedir.

Mikroorganizmanın saçılma oranı daha az ve süresi daha kısa olmaktadır.

- Kendiliğinden iyileşen veya sağaltılan hayvanlar uzun süre etkeni çıkarırlar ve genital organlarda barındırılırlar (**portör**).
- **İnfekte dişilerden doğan yavrular** sağlam olmalarına karşın **vücut yüzeylerinde fazlaca etken bulunur**, böyle hayvanlar da bulaşmada rol oynarlar.
- **Dişiler, infekte aygırlarla temasta**, kısa bir süre içinde (2-6 gün) klinik belirti gösterirler ve östrus dönemine girerler. Kızgınlık döneminde olanlarda vaginal veya servikal akıntılar daha fazladır.
- Kontagiyöz equine metritis genital sistemde bazı önemli histopatolojik bozukluklar meydana gelmektedir.
- **Akut olgularda, vagina ve serviks mukozası hiperemik ve üzerinde mukoid bir eksudat bulunmaktadır.**
 - İnfeksiyonun uterusu yayıldığı durumlarda, uterus mukozası üzerinde de benzer mukoid salgıya rastlanır. Histopatolojik yönden yapılan muayenelerde, hücrelerde fokal bozukluklar gözlenir. Laminal epitelyal hücrelerde proliferasyon ve basal bölgelerinde çeşitli derecede vakuolizasyon göze çarpar. Vakuoller içinde debris, granül er materyal ve dejenere olmuş lökositlere rastlanır. Ayrıca, luminal hücrelerin arasında ve stratum compactum'da polimorf nükleer lökositler (PNL) bulunur. Stromada ise mononükleer hücre infiltrasyonu daha belirgindir.

Teşhis

A) Klinik Teşhis

- Kontagiyöz equine metritisli yukarıda bildirilen klinik bulgulara göre tanımak oldukça kolaydır.
- ***Proteus mirabilis*** ve ***Klebsiella aerogenes***'den ileri gelen ve saf kan atlarda rastlanan genital infeksiyonların varlığı bir çok kez rapor edilmiştir.
- ***S. abortus equi*** abortuslara ve
- ***R. equi*** endometritislere neden olabilmektedir.
- Mikoplasmalar (***M. equigenitalium***, ***M. subdolum***, ***M. equirhinis*** vs.) ve
- Acholeplasmalar (***A. laidlawii***, ***A. equifetale***, ***A. hippikom***, ***A. oculi***) atlarda genital infeksiyonlara yol açarlar.

Teşhis

B) Nekropsi Bulguları

- Vaginal ve servikal eksudatlar, dış genital organlardaki hiperemi ve endometriumdaki histopatolojik bozukluklar ve ayrıca, biyopsi materyallerindeki polimorf nükleer lökositlerin fazlalığı teşhise yardımcı olur.

Teşhis

A) Laboratuvar Teşhis

- CEMO'yu izole ve identifiye edebilmek için
- dişi hayvanların genital kanallarının çeşitli yerlerinden (vagina, serviks, uterus, fossa klitoris, klitoral sinuslar)
- erkeklerden de prepisyum, penis, fossa uretralis, uretra ve preejakular sıvı) ve
- serviko-vaginal akıntılardan **steril** svablar (eküvyonlar) alınarak örneklemeler yapılır.
- Örneklerin en geç 20-24 saat içinde ekimleri yapılır.
- Ayrıca, akıntılardan da 4-5 lam üzerinde ince preparatlar hazırlanır.
- Serolojik yoklamalar için hayvanlardan kan alınarak serumları çıkarılır.

Teşhis

A) Laboratuvar Teşhis

- BAKTERİYOSKOPİ:

- Uterus ve serviko vaginal eksudatlardan hazırlanan preparatlardan bir kısmı Gram, diğerleri Stamp ve Giemsa boyama teknikleri ile boyanırlar. Gram'la boyananlarda,

Gram negatif kokoid-kokobasil görünümünde sporsuz mikroorganizmalar aranır.

Teşhis

A) Laboratuvar Teşhis

■KÜLTÜR:

■Aseptik koşullar altında alınarak laboratuvara getirilen svablar aşağıdaki tarzda ekime tabi tutulurlar.

■a) %10 at kanından hazırlanmış Eugon çikolata agar (streptomisin' li, 200 mg/ml).

■b) %10 at kanından hazırlanmış Eugon çikalata agar (streptomisinsiz).

■c) Eğer kontaminasyon fazla ise, Eugon çikolata agara streptomisin (200 mg/ml) + klindamisin (5 mg/ml) + amfoterisin (4 mg/ml) katılarak kullanılır.

■Svablar, önce a) ve b) maddelerinde bildiri-len çikolata agara ekilirler. Petri kutuları % 5-10 CO₂'li ortama bırakılarak üremeleri için bir hafta kadar rutubetli (%70-80) etüvde tutulurlar.

■Eğer svabların kontamine oldukları düşünülüyorsa, svablar c) maddesindeki besi yerine ekilir ve aynı mikro-aerofilik koşullarda inkube edilirler.

■Gram negatif, hareketsiz, kokoid-kokobasil, sporsuz ve kapsülsüz mikroorganizmalar *T. equigenitalis* yönünden incelenir

Teşhis

A) Laboratuvar Teşhis

■SEROLOJİK TESTLER:

■İnfeksiyonun serolojik yönden teşhisi için çeşitli testlerden yararlanılmaktadır.

■aglutinasyon (lam ve tüpte) ve

■komplement fikzasyon reaksiyonu. Gerekli olduğu durumlarda

■direkt ve indirekt fluoressan antikor,

■indirekt hemaglutinasyon,

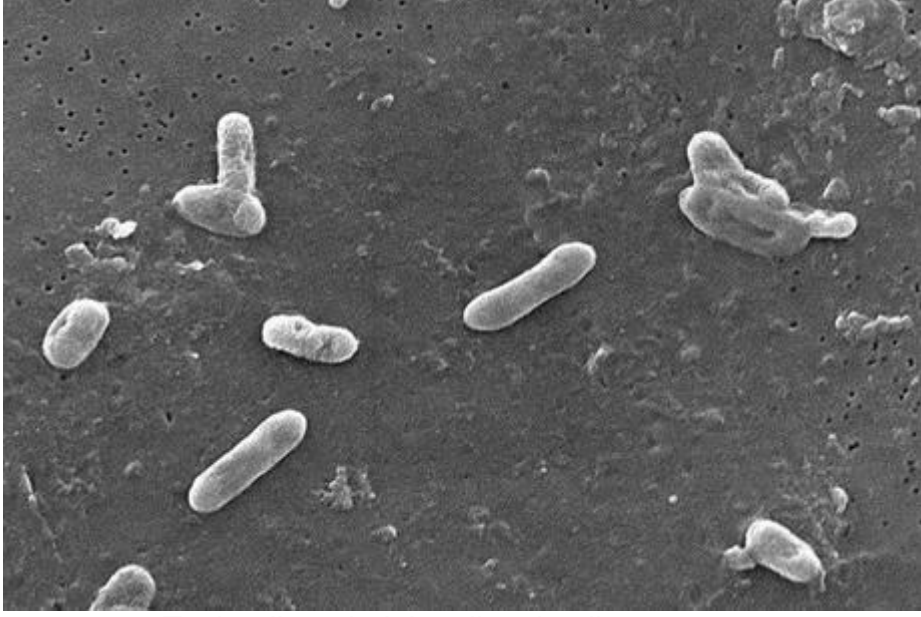
■anti-globulin,

■ELISA ve

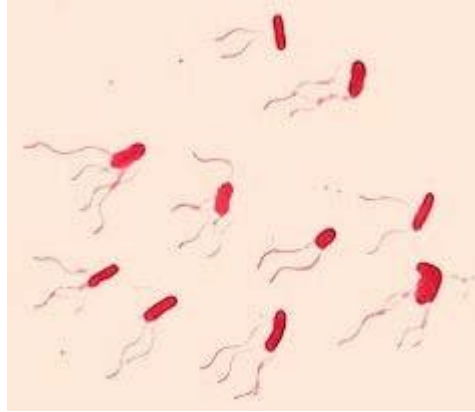
■koaglutinasyon teknikleri de kullanılabilir.

- Bordetella cinsi içerisinde yer alan bakteriler küçük Gram negatif tarzda olup özellikle, üst solunum yolu mukoz membranlarında komensal bir yaşam sürdürürler.
- Zorunlu aerobik, zenginleştirilmemiş besi yerlerinde ve Mac Conkey agarda üreyebilen, katalaz ve oksidaz pozitif, hareketli bakterilerdir.
- Toksik suşları memeli eritrositlerini aglutine etme özelliğine sahiptirler.
- Bu grubu oluşturan bakterilerden
 - *B. pertussis* insanlarda boğmaca,
 - *B. paraptussis* insanlarda boğmaca benzeri infeksiyonlar,
 - *B. bronchiseptica* köpekler başta olmak üzere domuz, kedi yavruları, at, tavşan ve kemirici laboratuvar hayvanlarında solunum yolu ile ilişkili infeksiyonlar ve
 - *B. avium* ise hindilerin koriza hastalığının etkenidirler.
- *B. bronchiseptica* normal olarak köpeklerin solunum yolunda bulunan mikroorganizmadır.
- Bulaşma, solunum yolu sekresyonlarıyla direk temas veya aerosol olarak şekillenir.
- Etkenin mekanik olarak transferinde, kontamine gıda, içme suyu, köpek kulübelerindeki fomitler, küçük evcil hayvan satış yerleri ve hayvan barınaklarının rolü vardır.
- Hastalığın morbiditesi %50 olmakla birlikte mortalite oranı düşüktür.
- Hastalık etkeni klinik olarak iyileşmeler bile, hastaların solunum yollarından aylarca etrafa yayılabilir.
- Lezyonlardan *B. bronchiseptica*'nın izole ve identifiye edilmesi ile teşhis kesinleşir.

- İzolasyon için glukoz, penisilin ve mycostatin katılmış MacConkey besiyeri ve koyun kanlı agar kullanılmaktadır.



Taylorella türlerinin mikroskopik görünümü



Bordetella türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Neisseria ve Francisella türlerinin laboratuvar tanısı
Yapılacağı hafta	4
Uygulamanın temel hedefi	Neisseria ve Francisella türlerinin laboratuvar tanısı
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ
● Neisseria genusu içinde şu türler bulunmaktadır: ● <i>N. animalis</i>, <i>N. bacilliformis</i>, <i>N. canis</i>, <i>N. cinerea</i>, <i>N. denitrificans</i>, <i>N. entiae</i>, <i>N. elongata</i>, <i>N. flava</i>, <i>N. flavescens</i>, <i>N. gonorrhoeae</i>, <i>N. iguanae</i>, <i>N. lactamica</i>, <i>N. macacae</i>, <i>N. meningitidis</i>, <i>N. perflava</i>, <i>N. pharyngis</i>, <i>N. polysaccharea</i>, <i>N. sicca</i>, <i>N. subflava</i>, <i>N. weaveri</i>. ● Neisseria genusunun üyeleri, 0,6 x 1,0 µm çapında koklardır ve çoğunlukla diplokok formunda bulunurlar. ● Bazı suşlar kapsüllü ve fimbriyalıdır. ● Optimal üreme ısıları 35-37°C'dir. ● Çoğu türler nutrient agarda üreyebilir ve küçük, şeffaf "S" tipli veya kuru, besiyerine yapışan koloniler oluştururlar. ● Oksidaz ve katalaz aktivitesine sahiptirler. ● Bu cinsin en önemli antijenik komponenti yüzey polisakkaridleridir ve serotiplendirmede kullanılır. ● Neisserialar fimbria ve adhezinleri sayesinde mukozalara adapte olmuş mikroorganizmalardır. ● <i>N. canis</i> köpek ve kedilerin boğaz florasında bulunur ve bu hayvanlar tarafından ısırılan insanlarda lokal deri infeksiyonlarına neden olur. ● Diplokok şeklindedir ve "S" tipli, açık sarı renkli ve kuru koloniler oluşturur. ● ● Glukoz ve laktoz negatif, nitrat pozitifdir. ● Francisella cinsi içinde, ○ insan ve hayvanların tularemi ve tavşanların, geyiklerin sinek humması gibi isimlerle tanımlanan infeksiyonunu oluşturan <i>F. tularensis</i> ve ○ sulardan izole edilen <i>F. novicida</i> ile <i>F. philomiragia</i> türleri bulunmaktadır. ● Hayvan sağlığı açısından önem taşıyan <i>F. tularensis</i>'in rezervuar konakçıları ○ tavşan gibi kemirici hayvanlar, ○ kanatlılar ○ geyiklerdir. ● İki alt tipinin bulunduğu ortaya konulmuştur. Bunlar; ● <i>F. tularensis</i> subsp. <i>tularensis</i> çok virulent Tip-A suşları - insan ve hayvanların klasik tularemi hastalığının nedenidir. Bu tip suşlar Kuzey Amerika'ya hastır. ● <i>F. tularensis</i> subsp. <i>holarctica</i> ise düşük virulansa sahip Tip-B suşları olup

insan ve hayvanlarda daha hafif seyirli hastalıklara yol açarlar. Bu tip suşlar Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'da bulunmaktadır.

- Kene, bit, pire, tahta kurusu ve kan emici sinekler vasıtasıyla da bulaşma olabilir.
- Bu infeksiyöz hastalık başta A.B.D. olmak üzere Avrupa ülkelerinde Rusyada, Japonyada ve ülkemizde de bulunduğu tespit edilmiştir.
- Hastalığın çıkışında mevsimlerin de rolü vardır. Özellikle yaz aylarında
- İçme ve kullanma suları etkenin bulaşması ve yayılışında önemli rol oynamaktadır.
- Etken ağız, burun ve göz mukozası ve deriden girebilir.

TEŞHİS

●A- Klinik teşhis

- Hayvanların derisi üzerinde fazla keneye rastlanması bu hastalıktan şüphelendirebilir.

●B-Nekropsi bulguları

- Tularemi nekropsi bulguları kesin teşhis için yeterli değildir.

●C- Laboratuvar muayeneleri

- 1-Bakteriyoskopi: Şişmiş lenf yumruları, dalak ve diğer iç organlarla keneler bakteriyolojik yoklamalar için gönderilir. Materyallerden hazırlanan frotilerde etkeni tespit etmek mümkün değildir.

- 2-Kültür:

- Lenf yumruları, kene, dalak ve diğer iç organlardan uygun besi yerlerine ekimler yapılarak etkenin izolasyonuna çalışılır. Üreyen bakteriler *F. tularensis* yönünden incelenerek identifikasyonu yapılır.

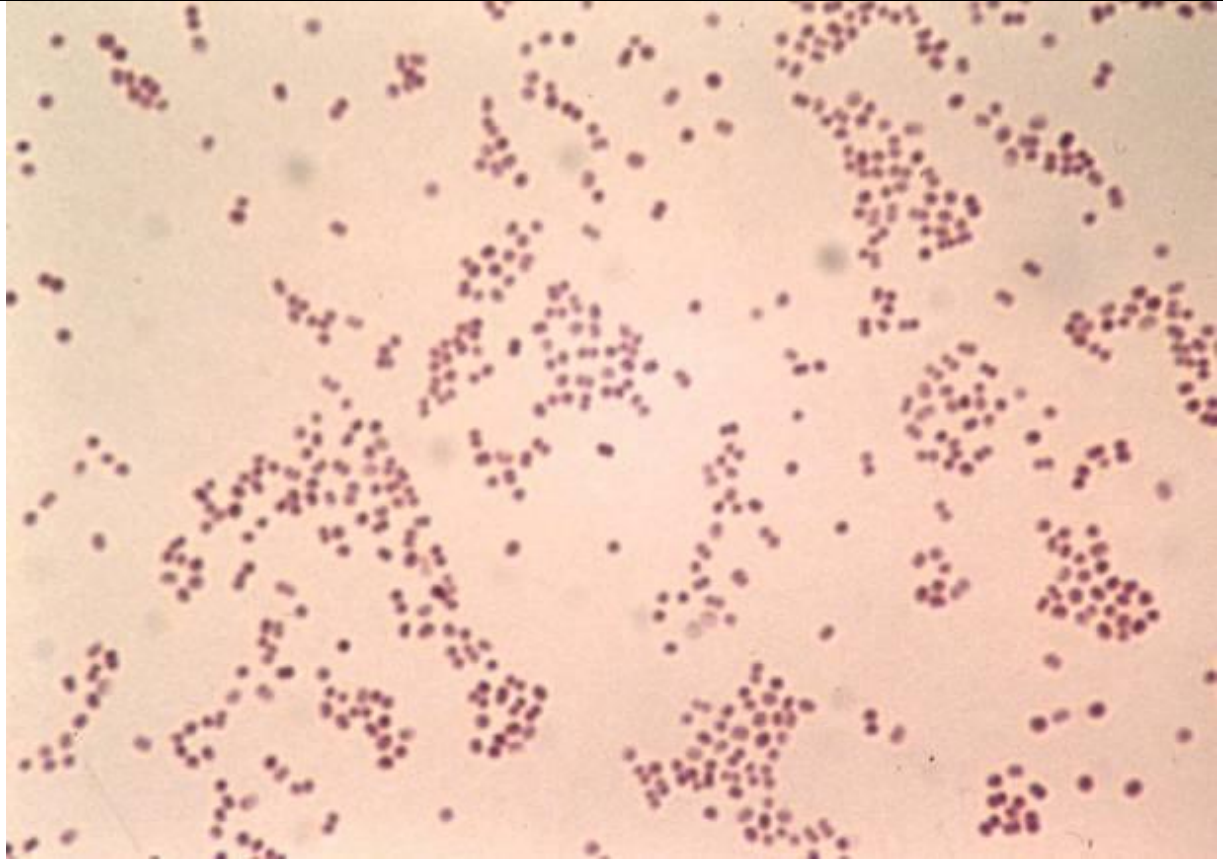
- 3-Hayvan deneyi:

- Marazi maddelerden veya besi yerlerinde üreyen etkenlerden kobay ve diğer laboratuvar hayvanlarına inokulasyon yapılarak kesin teşhise varılır.

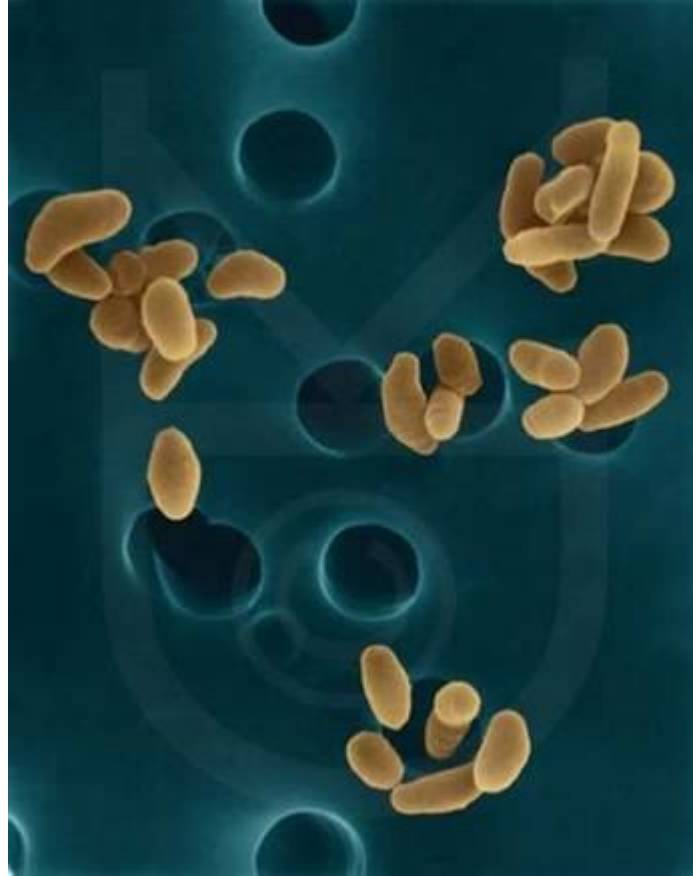
- 4-Serolojik testler: Hasta veya hastalığı geçirmiş olan hayvanlardan gönderilen kan serumlarına aglutinasyon testi uygulanır.

- Koyunlarda 1/80 ve yukarı titredeki aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak kabul edilir.

- Hasta koyunlarda bu titre 1/640 ile 1/1500 arasında değişir.



Neisseria türlerinin mikroskopik görünümü



Francisella türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Legionella ve Coxiella türlerinin Gram boyama ile incelenmesi
Yapılacağı hafta	5
Uygulamanın temel hedefi	Legionella ve Coxiella türlerinin Gram boyama ile incelenmesi
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ

- Legionellaceae familyasında yer alan Legionella cinsine bağlı 36 tür ve 47 serogrup bulunmaktadır.
- Legionella türleri arasında *Legionella pneumophila* en fazla bilinenidir. Bu türe ait 3 alt tür (*pneumophila*, *fraseri* ve *pascullei*) saptanmıştır.
- *Legionella spp.* çevrede çok yaygın olarak bulunur. Suyun bulunduğu her türlü çevrede rastlanabilir.
- Legionella infeksiyonları genellikle insanlarda ve ender olarak da hayvanlarda görülen akut, infeksiyöz karakterde bir hastalıktır. Etkeni çoğu zaman *L. pneumophila*'dır.
- İnsanlarda pnömoni veya daha hafif bir ateşli hastalığa (Pontiac ateşi) neden olur.
- *Legionella* cinsine bağlı etkenler;
 - aerobik,
 - Gram negatif,
 - 2-20 mm x 0,3-0,9 mm yada daha büyük,
 - sporsuz,
 - kapsülsüz,
 - hareketli,
 - kokobasil şeklinde bakterilerdir.
- Legionella'lar;
 - Katalaz pozitif,
 - oksidaz negatif veya zayıf pozitif,
 - nitrat negatif,
 - üreaz negatif,
 - jelatinaz pozitifdir.
 - Karbonhidratları fermente ve okside etme yetenekleri yoktur.
 - Hücre duvarında dallanmış yağ asidi zincirleri fazladır.

Teşhis

- Klinik bulgular ve nekropsi ile teşhis için yetersizdir.
- Laboratuvar muayeneleri olmadan teşhis koymak oldukça güçtür.
- Balgam, trakeobronşiyal aspirasyon sıvıları, plevra sıvısı ve başta akciğer olmak üzere lezyonlu dokulardan alınan otopsi örnekleri marazi madde olarak laboratuara gönderilir.
- Direk fluoresan antikor tekniği çabuk tanıda yardımcı olabilir.

Teşhis

- Kesin tanı için kültür yapılması, etkenin izolasyonu ve identifikasyonu gerekir. Besi

yerlerine ekim yapılarak %2,5 CO₂'li ortamda 36°C de 10-14 gün inkübe edilir. Üreyen koloniler biyokimyasal özellikleri yönünden incelenir.

●Latex aglutinasyon kitleri çabuk tanı için yararlıdır.

●PCR tabanlı moleküler teknikler son zamanlarda kullanılmakta ve teşhisi kolaylaştırmaktadır.

- Coxiella cinsi mikroorganizmalar;
 - Gammaproteobacteria sınıfında,
 - Legionellales takımında,
 - Coxiellaceae familyasına aittirler.

- Coxiella cinsinde önemli patojenik tür *C. burnetii*'dir.
- Evcil hayvanlardaki bu enfeksiyon, yakın ilişkili insanlarda bir meslek hastalığı olarak görülmektedir.
- Keneler, *C. burnetii* için bir vektör görevi yapıp özellikle Dermacentor, Argasid ve Haemaphysalis cinsleri etkenin yayılmasında önemli rol oynamaktadır.
- Ancak, etken doğada bir ara konakçıya gerek olmadan da yayılabilmektedir.
- Hayvanlarda hastalık, daha çok subklinik seyrettiğinden hayvanlar arası bulaşma daha kolay olmakta ve insanlar için de devamlı bir enfeksiyon kaynağı oluşturmaktadır.
- *C. burnetii* ruminantların dişi genital bölgelerine ve meme bezlerine yerleşir ve çoğalır.
- Enfekte hayvanlar uterus akıntılarıyla, fetal sıvılarıyla ve sütleriyle intermittant veya devamlı olarak organizmaları yayarlar.
- Etkenin enfekte hayvanların atık yavru suyu, plasenta, idrar, dışkı, süt ve her türlü bulaşık ürünlerinden diğer hayvanlara ve insanlara geçmesi mümkün görülmektedir.
- *C. burnetii*'nin aerosol yolla bulaşması evcil hayvanlar ve insanlarda yaygın olarak görülmektedir.
- Sindirim yoluyla da bulaşma olmaktadır.

Teşhis

■A- Klinik Teşhis

■Evcil hayvanlarda Q hummasının tanımı için klinik belirtiler yeterli değildir.

■B- Nekropsi Bulguları

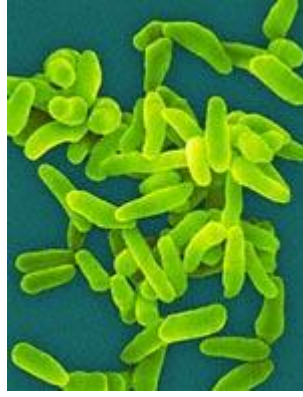
■Sığır, koyun, keçi ve köpeklerde genelde hiçbir belirti göstermeden seyretnesine rağmen az da olsa plasentitis, fütusta granulatöz hepatitis, myokarditis ve interstitiel pneumoni lezyonlarına rastlanmaktadır.

- C-Laboratuvar Muayeneleri
 - Laboratuvar muayeneleri için kan, süt, idrar, plasenta, atık yavru gibi örnekler alınır.
- 1-Bakteriyoskopi: Plasental doku ve uterus akıntılarında yapılan ve Modifiye Ziehl Neelsen yöntemi ile boyanan preparatlarda küçük kırmızı kokobasiller cisimcik kümeleri görülür.
- 2-Kültür: *C. burnetii* kobay ve fare, hücre kültürleri ve 5-7 günlük embriyolu yumurtaların yumurta sarı keselerinde kültüre edilebilir. Kobaylara intraperitoneal inokulasyon yapılabilir. Canlı kalan hayvanlarda bir kan örneği 2-3 hafta sonra antikor içerebilir. Yumurtalarda, doku kültüründe ve deneme hayvanı dokularında direkt immunofluoresans boyama izolatın tanımlanmasında kullanılabilir.
- 3-Serolojik testler: *C. burnetii*'nin serolojik teşhisi için komplement fiksasyon testi, indirekt immunofluoresan, ELISA ve bir kompetitif immunoassay kullanılabilir.

- 4-Moleküler tanı: Referans laboratuvarlarında yapılan polimeraz zincir reaksiyonu dokulardaki az sayıda organizmanın saptanmasında kullanılabilir.



Legionella türlerinin mikroskopik görünümü



Coxiella türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Moraxella ve Acinetobacter türlerinin preparatlarının incelenmesi
Yapılacağı hafta	6
Uygulamanın temel hedefi	Moraxella ve Acinetobacter türlerinin preparatlarının incelenmesi
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ

- Moraxellaceae *familyası*, Proteobacteria'ların, gamma-proteobacteria grubu içinde yer alır.
- Moraxellaceae familyasının üyeleri Gram negatif, aerob, sporsuz, hareketsiz ve aside dirençsizdir.
- Bazı türlerde kapsül bulunabilir ve çoğu fimbriyalıdır.
- Tek tek veya ikili kok, kokoid veya kısa çomakçıklar şeklindedirler.
- Optimal üreme ısıları 32-37°C'dir.
- Moraxellaceae familyasının çoğu üyeleri genellikle sıcak kanlıların mukoz membranlarına adapte olmuşlardır.
- En çok üst solunum sistemi, farinks, ağız ve göz mukozasına yerleşir ve buralarda çoğunlukla sporadik infeksiyonlara neden olurlar.
- Bu familya içinde hayvanlarda infeksiyonlara neden olan veya floralarında yer alan 3 cins (Genus) bulunur; Moraxella, Acinetobacter ve Psychrobacter.
- *M. bovis* Moraxella genusunun Moraxella subgenusu' içinde yer alır.
- *M. bovis* küt, kalın, uçları yuvarlak tek veya ikili kısa çomakçıklar şeklindedir ve ucuca eklenerek kısa zincirler oluşturabilir.
- Suşların çoğu fimbriyalıdır.
- Üreme gereksinimleri komplekstir; ve zenginleştirilmiş kanlı veya serumlu besiyerlerinde ürer.
- Fimbriyalı suşlar kanlı agarda konveks ve basık, 1-3 mm çapında hemolitik koloniler oluştururlar.
- *M. bovis* infeksiyonlarının kaynağı infekte hayvanların gözyaşı ve burun akıntılarıdır.
- Bulaşma hayvandan hayvana direkt temas yoluyla veya mekanik vektör sinekler vasıtasıyla olur.
- Morbidite bazı sürülerde %80'e kadar ulaşabilir.
- İnfeksiyon yaz aylarında kışa göre daha sık görülür. Bunun nedeni güneşin UV ışınlarının infeksiyona duyarlılığı arttırmasıdır.

Teşhis

▪A-Klinik Teşhis

▪Gözdeki infeksiyon belirtileri herhangi bir aşamada olabilir ve belirtilerin her biri infeksiyöz keratokonjunktivitisten şüphelendirir. Ancak, bu lezyonların sadece *M. bovis* infeksiyonuna spesifik olmadığını unutmamak gerekir.

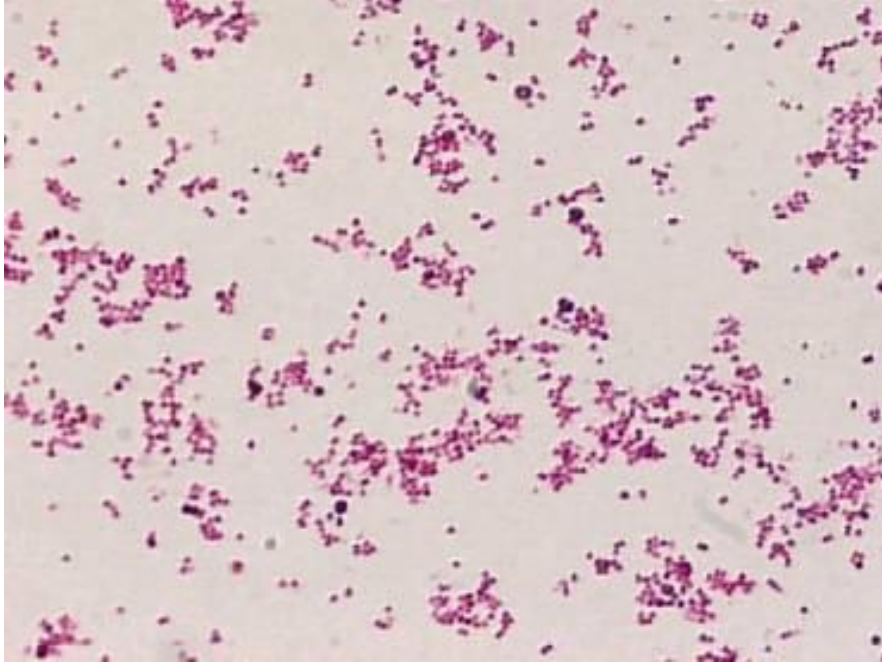
▪B-Patolojik Bulgular

- İnfeksiyonda, konjunktivitis ve ülseratif keratitise özel patolojik belirtiler ortaya çıkar.
- Histopatolojik bakıda, hastalığın dönemine göre, epitel hücrelerinde piknoz, nekroz, yangısal reaksiyonlar ve hücre infiltrasyonları dikkati çeker.

C- Laboratuvar Muayeneleri:

- Laboratuvara muayene amacıyla gözyaşı akıntısı veya göze değdirilen eküvyonlar gönderilir.
- **1-Bakteriyoskopi:**
- Gözyaşı akıntısından hazırlanan sürme preparat Gram yöntemi ile boyandığında, Gram negatif, kısa-küt, çoğunlukla ikili kısa çomakçıklar görülür.
- **2-Kültür:**
- Gözden alınan materyallerden kanlı agara veya 2,5 µg/ml kloksasillin içeren selektif kanlı agara ekim yapılır. Patojenik suşlar iki gün içinde besiyeri üzerine yapışan ve besiyerinde iz bırakan, hemolitik ve 1-3 mm çapında koloniler oluştururlar. Ayrıca Tween 80 diferensiyel besiyeri kullanılabilir. Etken, morfolojisi, negatif nitrat, pozitif oksidaz, jelatin ve litmus süt özellikleri ile benzer bakterilerden ayrılır.
- 3-Hayvan deneyi:
- *M. bovis* laboratuvar hayvanlarından sadece farelerde UV radyasyonu ve kortikosteroid uygulamasından sonra deneysel infeksiyon oluşturabilir. Bu yöntemin rutin teşhiste değeri yoktur.
- 4-Serolojik testler:
- *M. bovis*'e karşı oluşan antikorlar ELISA, immunodifüzyon ve pasif hemaglutinasyon testleri ile saptanabilir, ancak pratikte teşhis amacıyla serolojik test kullanılmamaktadır.
- Acinetobaeter türleri toprak, su ve hayvanların çevresinde yaygın olarak bulunan bakterilerdir.
- *A.calcoaceticus* türü dışında 21 yeni Acinetobaeter türü belirlenmiştir:
- *A. baumannii*, *A. bylyi*, *A. bouvetii*,
- *A. gernerii*, *A. glutaminasificans*, *A. grimontii*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii*,
- *A. lwoffii*, *A. marinus*, *A. parva*,
- *A. radioresistens*, *A. rhizosphaerae*,
- *A. schindleri*, *A. seohaensis*, *A. tandoii*,
- *A. tjernbergiae*, *A. townneri*, *A. ursungii*,
- *A. venetianus*.
- McConkey agarda üremez.
- Penisiline dirençlidir.
- *A.calcoaceticus*'un 6 biyotipi vardır ve bazı kaynaklar bunları ayrı türler olarak değerlendirir.
- Glukoz negatif suşlara *A. lwofii* adı da verilir.
- *A.calcoaceticus*'un klinik suşlarının çoğu beta-laktam grubu antibiyotiklere, gentamisine ve tetrasiklinlere dirençlidir.
- *A.calcoaceticus*, hayvanların yaşadığı çevrede çok yaygın olarak bulunur ve immun sistemi baskılanmış hayvanlarda çok çeşitli sporadik infeksiyonlara neden olur.
- Hayvanlarda şu vakalardan izole edilmiştir:
 - **Atlarda;** myositis, septisemi, hematüri, abortus ve infertilite.

- **Sığırlarda;** abortus, menenjit, pnömoni, metritis ve mastitis.
- **Koyunlarda;** sepsisemi
- Köpeklerde; sepsisemi, otitis, menenjit, konjunktivitis ve boğaz absesi
- **Domuzlarda;** sepsisemi ve abortus.
- Tavşanlarda; bronkopnömoni ve metritis.
- **Tavuklarda;** sepsisemi, perikarditis ve pnömoni.



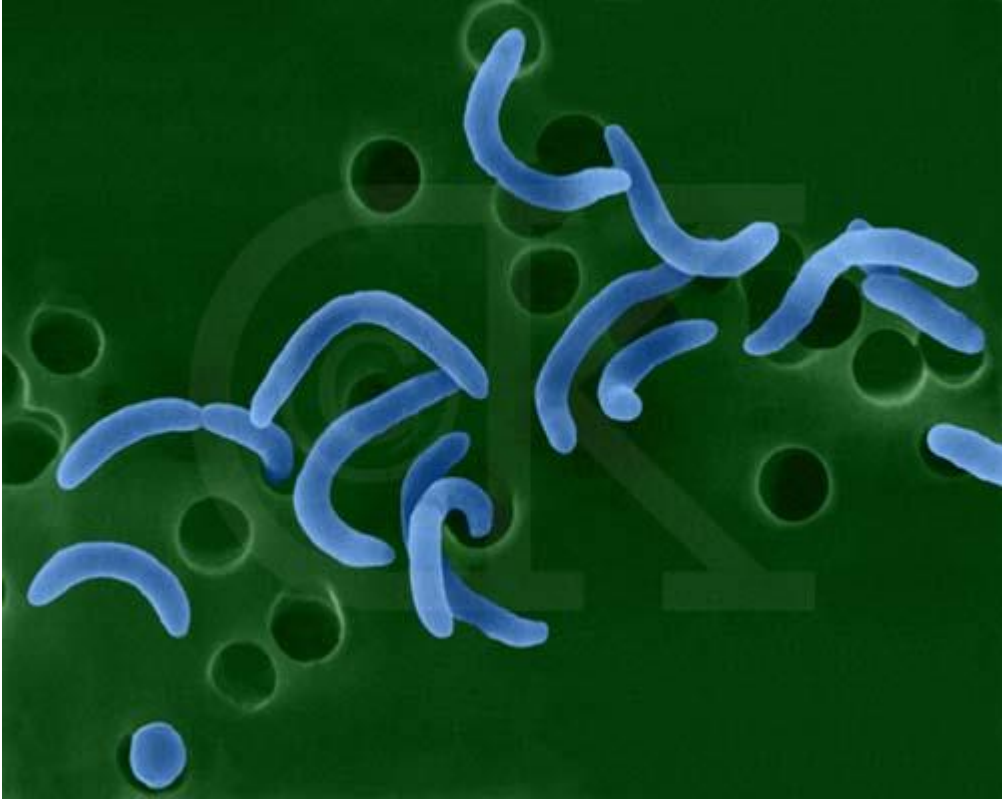
Moraxella türlerinin mikroskopik görünümü



Acinetobacter türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Vibrio infeksiyonlarında örnek alımı klinik tanı prosedürünün belirlenmesi
Yapılacağı hafta	7
Uygulamanın temel hedefi	Vibrio infeksiyonlarında örnek alımı klinik tanı prosedürünün belirlenmesi
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ
☐ Vibrionaceae familyası, Proteobacteria'lara bağlı Gammaproteobacteria grubu içinde yer alır. ☐ Vibrionaceae familyası içinde; ☐ Gram negatif, ☐ düz veya eğri çomakçık şeklinde, ☐ hareketli, ☐ sporsuz ve ☐ aside dirençli olmayan mikroorganizmalar yer almaktadır. ☐ Aerobik koşullarda ve genellikle basit besi yerlerinde üreyebilirler. ☐ Vibriolar düz veya kıvrık çomakçıklar şeklinde mikro organizmalardır. ☐ Kılıflı flagella ile aktif hareket ederler. ☐ Sıvı besi yerlerinde monotrik, katı besi yerlerinde peritrik flagella oluştururlar. ☐ Lateral flagellalar kılıfsız ve polar olanlara göre daha kısa ve farklı protein yapısındadır. ☐ Çoğu suşların üreme gereksinimleri mineral madde, tuz ve glikozdan ibarettir. ☐ Alkali koşullarda pH 10'a kadar toleranslıdır. ☐ Tüm suşlar 20°C'de, çoğu 30°C'de memelilerde infeksiyon oluşturanlar 37 °C'de ürerler. ☐ Katı besi yerlerinde 18-24 saat içinde düzgün kenarlı, konveks, kirli beyaz renkli S tipli koloniler oluştururlar. ☐ Tüm suşlar glukoz, fruktoz, maltoz ve gliserolü kullanırlar. ☐ Glukoz fermentasyonu sonucu asidik ve nötral son ürünler oluşur. ☐ Çoğu suş oksidaz pozitifdir. ☐ Tüm türler vibriostatik ajan 0-129'a duyarlıdır. ☐ Patojenik <i>V. cholerae</i> O:1 mukozal hücrelerinin iyon transportunu bozarak, hastalıkta görülen şiddetli sekretorik ishale yol açar. ☐ O:1 serovarı içinde bilinen gruplara girmeyen ve toksin üretmeyen non-patojenik suşlar da vardır. ☐ O:1 dışında kalan diğer <i>V. cholerae</i> serovarları ise kolera toksini üretmez, fakat enterotoksin vasıtasıyla ishale neden olabilir. Bu serovarlar genellikle epidemi ve pandemilere neden olmazlar. ☐ <i>V. cholerae</i> kaynağı sularıdır, bulaşma genellikle su ve kontamine su ile bulaşık gıdalar vasıtasıyla olur.



Vibrio türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Aeromonas türlerinin preparatlarının incelenmesi ve laboratuvar teşhis prosedürü
Yapılacağı hafta	8
Uygulamanın temel hedefi	Aeromonas türlerinin preparatlarının incelenmesi ve laboratuvar teşhis prosedürü
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ
➤ Aeromonadaceae familyası, Succinivibrionaceae familyası ile birlikte ➤ Proteobacteria'ların ➤ Gammaproteobacteria grubu içinde yer almaktadır. ➤ Gram negatif, ➤ yuvarlak <i>uçlu</i> düz veya eğri çomakçıklar şeklinde, ➤ hareketli, ➤ sporsuz ve ➤ aside dirençli olmayan bakterilerdir. ➤ Hareketsiz ve psikrofilik Aeromonaslar ise • <i>A. salmonicida</i> ve alt türlerini kapsamaktadır. ➤ Aeromonas'lar 0,3-1,0x1,0-3,5 µm boyutlarında, ➤ Çomakçık şeklinde Gram negatif mikroorganizmalardır. ➤ Fakültatif anaerobtur. ➤ Karbonhidratları respiratorik ve fermentatif yolla metabolize ederler. ➤ Oksidaz, katalaz ve nitrat pozitifler. ➤ Vibriostatik ajan O-129'a dirençlidirler. ➤ Tüm türler glukoz ve maltoz pozitif, ksilol, dulsitol ve adonitol negatiftir. ➤ Tüm suşlar jelatinaz, DNAaz, RNAaz ve esteraz aktivitesine sahiptir. ➤ Nutrient agar içinde düzgün, yuvarlak kenarlı, konveks, pigmentsiz, 0.5-2.0 mm çaplı, S tipli koloniler oluştururlar. ➤ Çoğu suşlar kanlı agarda hemoliz yaparlar. ➤ Hareketli Aeromonas türlerinin tümü; ● mannitol, trehaloz, fruktoz, galaktoz, dekstrin, nişasta, lesitinaz, fosfotaz ve ONPG pozitif; ● sorboz, eritrol, rafinoz, ornitin dekarboksilaz, triptofan ve fenilalanin deaminaz negatiftirler.

- Hareketli Aeromonas türlerinin doğal yaşam ortamları deniz ve tatlı sulardır.
- Bu bakteriler lağım sularından kaynak sularına kadar her türlü su örneğinde bulunabilirler,
 - Kirli sularda daha çok *A. caviae*,
 - Temiz sularda ise daha çok *A. hydrophila* ve *A. sobria*
- Sularda hareketli Aeromonas oranı sıcak mevsimlerde yükselir, soğuk mevsimlerde düşer.
- Sulardaki yaygın varlığı nedeniyle, etkenler tatlı su ve deniz balıklarının, kabuklu hayvanların ve amfibianların bağırsak florasında ve vücut yüzeylerinde bulunurlar.
- Bu türler arasında en çok *A. hydrophila* suşlarına rastlanır ve hayvanlar arasında genellikle temas yoluyla bulaşır.

Teşhis

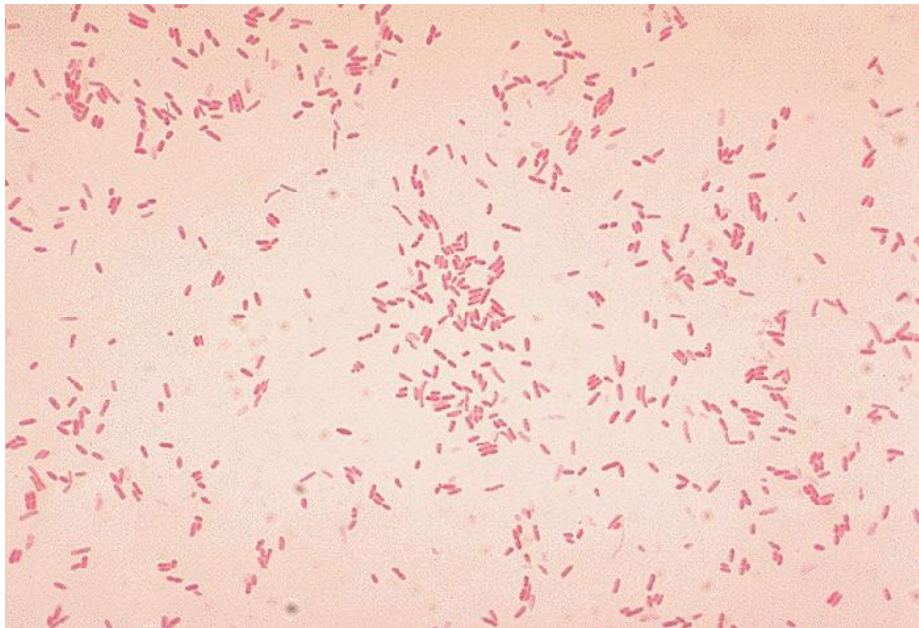
➤A- Klinik Teşhis

➤Su hayvanlarında ve memeli hayvanlarda görülen klinik belirtiler diğer Gram negatif bakteri infeksiyonlarında da ortaya çıkar.

➤B-Nekropsi Bulguları

➤Su hayvanlarında ve memeli hayvanlarda görülen lezyonlar, diğer Gram negatif bakteri infeksiyonlarında da ortaya çıkar.

- C-Laboratuvar Muayeneleri
- Muayene amacıyla hasta veya ölü balıklar, memeli hayvanların kan ve dışkı örnekleri laboratuvara gönderilir.
-
- **1-Bakteriyoskopi:** Bakteriyoskopinin teşhiste değeri yoktur.
- **2-Kültür:** Marazi maddelerden ampisilinli kanlı agara ekim yapılır ve 18-24 saat içinde üreyen S tipli hemolitik koloniler biyokimyasal testler ile değerlendirilir.
- **3-Serolojik testler:** Hareketli Aeromonas infeksiyonlarının teşhisinde serolojik testlerin pratik değeri yoktur.



Aeromonas türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Campylobacter türlerinin preparatlarının incelenmesi ve laboratuvar teşhis prosedürü
Yapılacağı hafta	9
Uygulamanın temel hedefi	Campylobacter türlerinin preparatlarının incelenmesi ve laboratuvar teşhis prosedürü
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ

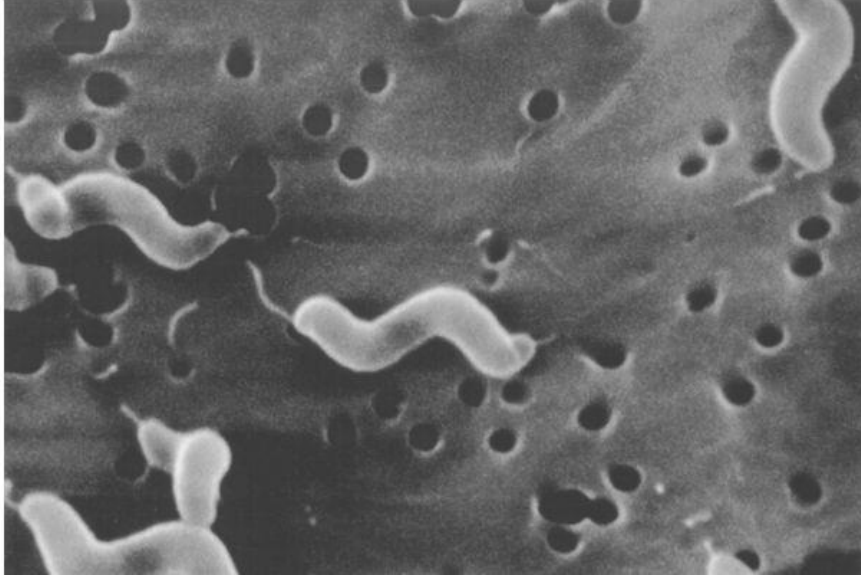
- Kampilobakterle çeşitli evcil ve yabani hayvanların normal bağırsak floralarında bulunmakta ve bu hayvanlarda enterik ve genital sistem infeksiyonlarına neden olmaktadır. Ayrıca bu etkenler insanlarda da infeksiyon oluşturmaktadır.
- Birçok türünün Vibrio cinsi içinde olduğu sanılan Kampilobakterlerden Campylobacter fetus gebe koyun-keçi ve sığırlarda salgın şeklinde yavru atmaların, Campylobacter jejuni ve Campylobacter coli insanlarda gastorenteritisin başlıca nedenleri arasındadır.
- Başta kanatlılar olmak üzere hayvansal gıdalar, kontamine yeryüzü suları, pastörize edilmemiş sütler, infekte hayvanlarla direkt temas, hastalığın bulaşma kaynakları arasında yer almaktadır.
- Gram negatif, "S" harfi, helical veya daha uzun spiral şeklinde, mikraerofilik, sporsuz, kapsülsüz ve aside dirençli olmayan bakterilerdir.
- Bakterinin tek her ucuna yerleşmiş kılıfsız polar flagellalar ile aktif hareketlidirler.
- Fimbria veya pilusları yoktur.
- Karbonhidratları kullanmayan sınırlı respiratorik bir mekanizmaya sahiptirler.
- Enerjilerini tirkarboksilik asit mekanizmasından sağlarlar.
- Türlerin çoğu zorunlu mikraerofiliktir.
- Optimal üreme için ortamda %3-5 oksijen, %7-10 kaobondioksit bulunması gerekir.
- Türlerin çoğu aerobik ve anaerobik ortamda üremez.
- Optimal üreme ısıları 37 °C dir.
- Oksidaz pozitifler
- Asit veya nötral son ürünler oluşturmazlar.
- Jelatin, üre, MR ve VP negatiftirler. Üreme ısı limitleri, katalaz, nitrat, hippurat, H₂S, selenit reaksiyonları, glisin ve tuz toleransları yönünden türler arasında farklılıklar vardır.
- 42 °C de üreyebilen türler "Termofilik Campylobacter" grubunu oluşturur.

TEŞHİS

- Klinik Teşhis: Diğer abortus vakalarından ayırmak zordur.

- Otopsi bulguları:
- Fokal karaciğer nekrozu
- Kotiledonların üzeri süte benzer veya peynirimsi bir kitle ile kaplı ve ödematözdür.
- Laboratuvar Muayeneleri:

- Atık fötüs, steril koşullarda alınan mide, karaciğer ve diğer iç organlar, kotiledonlar ve yavru zarları kısa sürede laboratuvara yollanır.
- BAKTERİYOSKOPI: Mide içeriği ve kotiledonlardan hazırlanan sürme preparatlar Gram boyama yöntemi ile boyandığında “S” veya daha uzun spiral şekilli gram negatif bakteriler görülebilir.
- KÜLTÜR: Mide içeriği, karaciğer ve diğer iç organlardan %7 defibrine kan ilave edilmiş BHI agar, kolombiya agar, brusella agar, tiyoglukonat agar gibi besiyerlerine ekim yapılır.
- Eğer fötüs taze değilse veya kotiledonlardan ve yavru zarlarından ekim yapılacaksa bu besiyerlerine SKIRROW veya BUTZLER selektif suplemanları konulur. Besiyerleri mikroaerofilik ortamda 37 °C de 3-5 gün inkube edilir. Daha sonra biyokimyasal testlerle tanıya gidilir.
- HAYVAN DENEYİ: Bu amaçla fare, embriyolu yumurta ve kobaylar kullanılır.
- SEROLOJİK TESTLER: Bu amaçla atık yapan koyunlardan 15 gün sonra kan alınır. Serolojik teşhis için;
- ELISA
- Agglutinasyon
- Komplement fiksasyon testleri kullanılır.



Campylobacter türlerinin mikroskopik görünümü

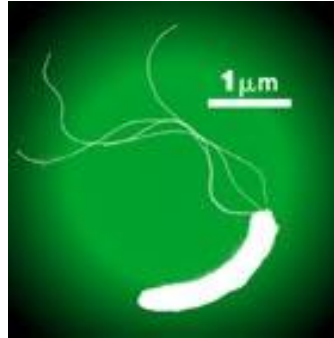
Uygulamanın adı	Arcobacter ve Helicobacter türlerinde laboratuvar tanısı
Yapılacağı hafta	10
Uygulamanın temel hedefi	Arcobacter ve Helicobacter türlerinde laboratuvar tanısı
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ

- 1977'de Ellis ve arkadaşları atık sığır, koyun ve domuz fötüslerinden izole edilen fenotipik olarak birbirinden ayrı iki mikroaerofilik, spiral mikroorganizma grubunu bildirmişlerdir.
- Birinci grup *Campylobacter fetus* olarak tanımlanmış, 2.grup ise tanımlanamayan *Campylobacter* sınıfı olarak ele alınmıştır.
- İkinci grupta yer alan kampilobakterler mikroaerobik şartlarda ilk izolasyondan sonra 30°C'de aerobik olarak üremelerinden dolayı "aerotolerant campylobacter" olarak sınıflandırılmıştır.
- Daha sonra bu grup *Campylobacter cryaerophila* olarak isimlendirilmiştir.
- Arkobakterler (latince arcus: yay, kavis, bacter: çomak) mikroaerofilik (%3-10 O₂'e gereksinim duyan) 1-3 x 0.2-0.9 µm boyutlarında, Gram-negatif, helikal ve spor oluşturmeyen mikroorganizmalardır.
- Kılıfsız polar flagellaya sahip olup kurbağa larvası yada tirbuşon benzeri harekete sahiptirler.
- Kanlı agarda 30°C'de 2-3 günlük inkübasyondan sonra 2-4 mm çapında, gri-beyaz, konveks, düzgün kenarlı koloniler meydana getirirler.
- *Arcobacter skirrowi* ve bazı *A. butzleri* suşları alfa hemolitik aktiviteye sahiptirler.
- %0.6 maya ekstraktı ve %10 kan içeren Brain heart infusion agar veya herhangi bir başka kanlı agar (örneğin Müller Hinton agar veya Blood agar base No. 2 v.b.) rutin kültürel yoklamalar için kullanılmaktadır. Bununla birlikte birçok suşun sıvı ortamlarda kültüre edilmesi ve üretilmesi zordur.
- *Arcobacter* türlerin üreme ısı limitleri 15-37°C, pH ise 5.5 - 9.5'tir.
- Arkobakterleri kampilobakterlerden ayıran en önemli özellik 15-30°C'de ve aerobik şartlarda üreyebilme yetenekleridir.
- Ayrıca arkobakterler 37°C'de anaerobik şartlarda zayıf bir üreme gösterirler. *Campylobacter jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* 42°C'de üreyebilmesine karşın çok az *Arcobacter* suşu böyle bir termotoleransa sahiptir.
- Arkobakterlerin metabolik aktiviteleri zayıf olup karbonhidratları fermente/okside edemezler; karbon kaynağı olarak aminoasitleri ve organik asitleri kullanırlar.
- Klinik materyal, dışkı, hayvansal orijinli gıda vb. gibi ortamlardan arkobakterlerin izolasyonunda kullanılan standart bir metot bulunmamaktadır.
- Arkobakterler, kampilobakterlerin izolasyonunda kullanılan ortamlardaki

inhibitörlere karşı duyarlı olduklarından dolayı bu ortamlar arkobakterlerin izolasyonu için uygun değildir.

- Ancak kampilobakterlerin izolasyonunda kullanılan ortam ve metotların modifiye edilmesiyle geliştirilmiş yeni metot ve ortamlar kullanılmaktadır.
- Arkobakterlerin izolasyonu için başlangıçta, Leptospiralar için kullanılan ve 5-fluorouracil ilave edilmiş Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris Polysorbate 80 (EMJH P80) besiyeri kullanılmıştır.
- Collins et al. cefoperazone-vancomisin-amphotericin ve kan içeren ortam ile modifiye cefsulodin-irgasan-novobiocin içeren ortamının 30°C'de mikroaerobik şartlarda inkübe edildiğinde arkobakterlerin izolasyonunda etkin olduğunu bildirmişlerdir.
- De Boer ve ark. arkobakterlerin izolasyonu için 24°C'de 48-72 saat aerobik şartlarda inkübasyonu esasına dayanan bir ortam geliştirmişlerdir.
- Johnson and Murano 48 saat aerobik şartlarda inkübe edilen zenginleştirilmiş buyyon ve selektif katı besiyeri esaslı ortamı bildirmişlerdir.
- İzolasyonu yapılan arkobakterlerin tür düzeyinde identifikasyonlarında biyokimyasal ve üreme testlerini içeren fenotipik özellikler ile moleküler mikrobiyolojik metotlar kullanılmaktadır.
- Arcobacter türlerinin birbirinden ayırımında katalaz, nitrat redüksiyonu, kadmiyuma duyarlılık, 20°C'de mikroaerofilik üreme, MacConkey'de üreme, %1 glisinde üreme, ve %3.5 NaCl'de üreme gibi fenotipik özellikler kullanılır.
- Tüm Arcobacter izolatları indoksilasetat pozitifdir.
- Fenotipik özellikler ile ilgili olan ve türlerin ayırımında kullanılan testler Tablo-2'de verilmiştir.
- Arkobakterleri tür düzeyinde identifiye etmek amacıyla moleküler metotlardan da yararlanılmaktadır.
- Tüm hücre proteinlerinin SDS-PAGE'i Arcobacter türlerinin ayırımında oldukça faydalı bulunmuştur.
- DNA probları ve Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) primerleri de Arcobacter suşlarının genus ve tür düzeylerinde ayırımı amacıyla başarıyla kullanılmıştır.



Arcobacter türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Spiroketlerin genel mikroskopik yapısı ve laboratuvar teşhisi
Yapılacağı hafta	11
Uygulamanın temel hedefi	Spiroketlerin genel mikroskopik yapısı ve laboratuvar teşhisi
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ

- Sarmal şekilli ve çok hareketlidirler.
- Protoplazmik silindirile dıştaki kılıf arasında bulunan aksiyel filament denen periplazmik flagella ile hareket ederler.
- İleri geri hareket, gram negatif, kapsülsüzdürler.
- Kendi eksenini etrafında burju hareketi
- Eğilip bükülmek suretiyle yılanı hareket

Bataklık, sulu, sıcak ve alkali topraklarda bulunurlar. Ayrıca rodentler Leptospiraların rezervuarlarıdır.

Aerobik karaktere sahiptir. Optimal üreme ısı 28-30°C'dir.

Parazitik Leptospiralar, insan ve hayvanlarda ikterus, sepsisemi, anemi, hemoglobinuri, abortus ve ölüm ile son bulan enfeksiyonlara yol açarlar.

Leptospiraların bazıları insan ve hayvanlarda hastalık oluşturmalarına karşın (L. interrogans), bir kısmı sulardaserbest bir yaşantıya sahip olup parazitik değildirler (L. biflexa).

Sığırlardaki Leptospiroz genellikle L.grippotyphosa, L. hebdomatis, L.icterohemorrhagiae, L. pomona ve diğer serotipler neden olurlar.

Gövde kısımları çok düz olan ve sarmal biçimde mikroorganizmalardır.

Bükülebilir yapıda olup bir veya iki ucu çengel tarzında kıvrılmıştır. Bu kıvrımlar, etkene çengel, olta, C, S, L gibi şekiller verir.

Flagellaları olmamasına karşın aktif harekete sahiptirler. Bu hareket başlıca 3 tarzda görülür:

- 1- uzun eksen etrafında dönerek oluşturulan hareket
- 2- aksial filamentin kasılarak, genişleyerek meydana getirdiği hareket
- 3- kayma hareketi

Leptospiralar en fazla deri ve konjunktivalardan vücuda girerek enfeksiyon oluşturur. Vücuda girdikten 4-6 gün sonra leptospiraemia ile bütün vücuda yayılır. Bu devrede ateş yükselir, ancak kanda antikorlar henüz görülmez. Antikor titresi 4-5 hafta içinde maksimum seviyeye yükselir. Sepsisemi dönemi sonunda kanda antikorlar artmaya başlar, leptospiralar azalır. Mikroorganizmalar böbreğe yerleşir ve idrarla atılmaya başlar. Böbreklerde lokalize leptospiralar, tubulusların bozulmasına ve nekrotik odaklara yol açarlar.

TEŞHİS

A- Klinik teşhis: en fazla babesiosis, anaplasmosis, basiller ikterohemoglobinuri ile karışır.

B- Otopsi Bulguları: böbrek büyümesi, kapsula altında nekrozlar gibi bulgular hastalık için patognomik bulgu değildir.

C- Laboratuvar Muayeneleri

1. Bakteriyoskopi:

a) Leptospirosis döneminde hayvandan defibrine kan alınır ve preperat hazırlanır. Alınan preperat karanlık saha mikroskopunda muayene edilir ve leptospiralar aranır.

b) Alınan kan ile yapılan preperatlar Giemsa ile boyanarak muayene edilir, yada Kongo red ile negatif boyama yöntemi ile incelenebilir.

1. Bakteriyoskopi:

a) Leptospirosis döneminde hastadan aseptik koşullarda idrar alınır, hafif şekilde santrifüj edilir ve üstten bir damla idrar alınarak karanlık saha mikroskopunda bakılır. Sonuç negatif ise 6-7 gün sonra tekrar idrar alınarak muayene yenilenir. İdrarın asidik karakterinin etkene zarar vermemesi için idrarın pH'sı ayarlanmalıdır.

b) Böbrek ve karaciğer dokularından kesit alınır. Levaditi veya Fontana gümüşleme yöntemlerinden biriyle boyanarak muayene edilir. Ayrıca dokulardan alınan süspansiyonlarla lam-lamel arası muayene de yapılabilir.

c) Mevcut serotipe uygun konjugat varsa, floresan antikor ve immün peroksidaz yöntemiyle idrar, doku ve serebrospinal sıvıdan etken aranır.

Kültür:

a) Kandan izolasyon: ateşli dönemde alınan kan, sıvı veya yarıkatı besiyerine (Fletcher, EMJH, Korthoff, Stuart, vs.) ekilir. Besiyeri 28-32°C'de 5-6 gün inkubasyona bırakılır. Bazı durumlarda ilk izolasyon için 37°C uygun olmaktadır. Besiyerine 5-fluoruracil eklenmesi, diğer kontaminantların üremesine mani olmaktadır.

b) İdrardan izolasyon: ikinci haftadan sonra aseptik koşullarda alınan idrardan direkt ekim yapıldıktan sonra, geri kalanı fosfat buffer veya Stuart besiyeri ile 1/10 oranında sulandırılır. Bu stok solusyondan dilüsyonlar hazırlanır (1/20, 1/40, 1/80). Dilüsyonlardan birer damla besiyerine ekilir inkubasyona bırakılır. Kan kültüründeki gibi muayene edilir.

c) Serebrospinal sıvıdan izolasyon: hastalığın ilk safhasında alınan sıvı çeşitli ortamlara ekilir. Muayeneler kan ve idrardaki gibi yapılır.

d) Otopsi materyalinden izolasyon: steril şırınga ile sidik kesesinden idrar çekilir ve kültürü yapılır.

e) Beyinden izolasyon: beyinden süspansiyon yapılır ve yarıkatı besiyerine ekilir.

f) Sulardan izolasyon

3. Hayvan deneyleri: hamster, kobay, civciv: embriyolu yumurta, doku kültürü

Serolojik testler:

a) Mikroskop lam aglutinasyon testi: standart antijen kullanılır. Lam üzerine standart antijen konur ve buna 1 damla grup antijenlerden ilave edilir. Sonuç değerlendirilir.

b) Mikroskopik aglutinasyon testi: canlı antijenle aglutinasyon, formolle aglutinasyon testi olmak üzere ikiye ayrılır.

c) Semi mikro test ve mikrotitre yöntemleri

d) İndirekt hemaglutinasyon testi

e) Komplement fikzasyon reaksiyonu

f) Trombositobarin deneyi

g) Koruma deneyi

h)

Borrelia burgdorferi

■ Lyme hastalığı yapar.

■ Kene ısırmasıyla bulaşır.

- Organizmanın ana rezervuarı küçük kemiricilerdir.
- Enfektif bir dozun bulaşması için kenenin 24-48 saat beslenmesi zorunludur.

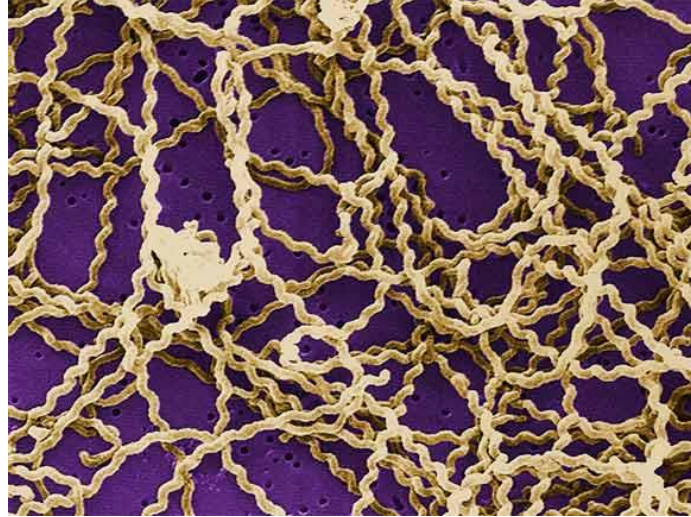
1990 yılında İsveç'te insanlar arasında erythema chronica migrans olarak adlandırılan deride kızarıklık ile karakterize hastalık tanımlanmıştır.

Etiyoloji

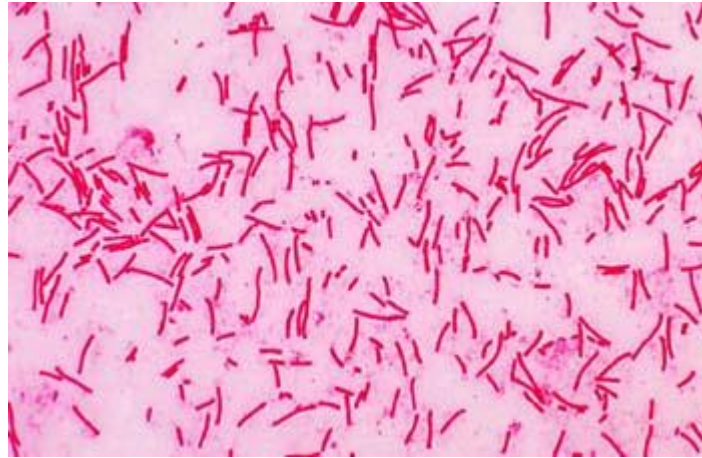
B. burgdorferi, gram negatif olmasına karşın en iyi Giemsa ve gümüşleme yöntemi ile boyanırlar. Lyme hastalığı, keneler tarafından bulaştırılır. Bulaşmada Ixodes cinsi keneler önemli rol oynar (I. dammini).

■ Tanı:

- Serolojik olarak tanı konur.
- Pozitif testler doğrulanmalıdır.
- PCR kullanılır.



Leptospiraların mikroskopik görünümü



Borrelia türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Bacteriodes, Fusobacterium türleri laboratuvar teşhisi
Yapılacağı hafta	12
Uygulamanın temel hedefi	Bacteriodes, Fusobacterium türleri laboratuvar teşhisi
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ
•Bacteriodeceae familyası Bacteriodes cinsi •İnsan ve hayvanların gastrointestinal mikrofloralarında bulunurlar •Konakçı direnci azaldığı zaman patojen hale dönüşürler. •Gram negatiftirler •Pleomorfiktirler. •Kokoid veya çomak şeklindedirler •37 °C de 2-5 gün içinde ürerler. •Bacteriodes cinsi etkenler, Fusabacterium’lardan farklı olarak kanamisine duyarlı değildir. •Türlerin identifikasyonunda gaz kromotografi yönteminin kullanılması önemlidir. •Endotoksin ve enzim sentezlerler. En önemli enzimleri; neurominidaz, hyalurinidaz, lesitinaz, kollogenaz, jelatinaz ve fibrinolizindir. •Somatik O antijenine sahiptirler. •Bu mikroorganizmalar insan ve hayvanların ağız boşluğunda ve barsak kanalında normal olarak bulunmaktadır. •Gram negatif, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, çomak şeklinde genellikle fusiform (iğ) görünümünde •Obligat anaerobik mo. lardır. •Şekilleri pleomorfizm gösterebilir. Kokoid form, filamentöz form •37 °C de maya özeti, serum ilave edilmiş besiyerlerinde ürerler •Genellikle karbonhidratları ayrıştırırlar. •Fusobacterium’ların bir çoğunun endotoksin ve lökosidin sentezledikleri bilinmektedir. •Bazı suşların lipaz, hemolizin ve hemaglutinin aktiviteleri vardır.

•A-Klinik Teşhis

•Buzağı difterisi klinikte kolaylıkla tanınır. Ağız mukozasında (dilde, damak, yanakların içi, larinks, farinks) karakteristik kenarları belirgin, nekrotik membran bulunur ve alttaki dokulara yapışık vaziyettedir.

•Hastalık daha ziyade şap hastalığı ile karışabilir.
Teşhis

•B-Nekropsi Bulgulan

•Ağızda, larinks ve farinksdeki lezyonlar, nekropside daha kolay görülerek

•C-Laboratuvar Muayeneleri

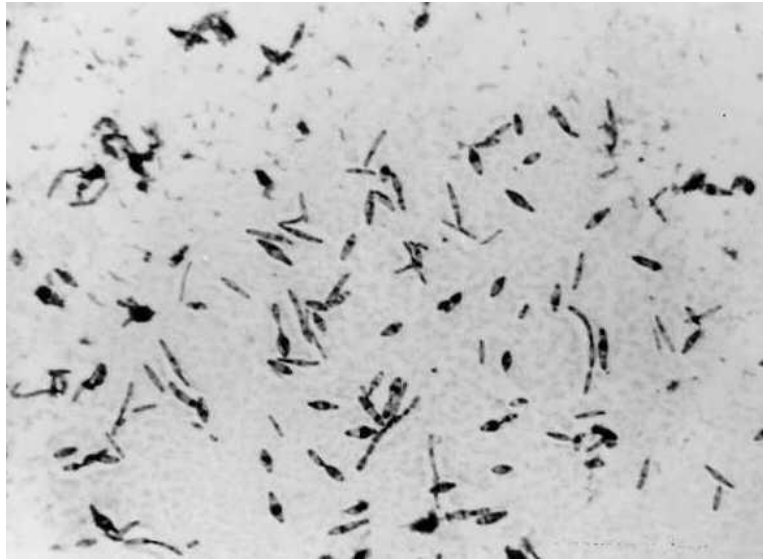
•Bu amaçla ağız ve iç organlardan marazi maddeler alınarak laboratuvara gönderilir.

•**I-Bakteriyoskopi:** Ağızdaki lezyonlardan veya iç organlardaki nekrotik adaklardan yapılan frotilerde uzun filamentler meydana getiren Gram negatif mikroorganizmalara rastlanabilir.

•C-Laboratuvar Muayeneleri

•**2-Kültür:** Lezyonlardan alınan materyaller sıvı ve katı besi yerlerine ekilerek anaerobik koşullar altında üretilir.

•Üreyen kolonilerden frotiler yapılarak *F. necrophorum* yönünden morfolojik, kültürel, biyokimyasal. ve hayvan denemeleri yapılarak etken identifiye edilir.



Bacteriodes türlerinin mikroskopik görünümü



Fusobacterium türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Mycoplasma türleri morfolojik yapıları ve laboratuvar teşhisi
Yapılacağı hafta	13
Uygulamanın temel hedefi	Mycoplasma türleri morfolojik yapıları ve laboratuvar teşhisi
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ

- Bu etkenler, hareketsiz, sporsuz ve kapsülsüzdürler.
- Gram negatif olmalarına rağmen anilin boyaları ile güç boyanırlar.
- Giemsa, Macchiavello ve Castaneda gibi boyama yöntemleri ile boyanabilen bu mikroorganizmalar
- Hücre duvarları olmaması nedeniyle pleomorfik özelliğe sahiptirler
- Hücre duvarı yerine UNIT MEMBRAN adlandırılan lipidlerden (fosfolipidler, glikolipidler, lipoglikanlar, steraller), karbonhidratlardan ve proteinlerden oluşan bir katmanla çevrilmişlerdir
- Unit membrandaki
- Karbonhidratlar, komplemanı fikse etmede ve nötralizan antikorların saptanmasında rol oynarken
- Proteinler ise, metabolik inhibisyon ve presipitasyonda rol alan antikorların sentezini uyarırlar.
- Mycoplasma etkenlerini üretmek oldukça güçtür. Besiyerlerinde üremelerinde kolesterol gereksinimleri nedeniyle besi yerlerine %20 at serumu ilave edilir.
- Üremeyi artırması amacıyla maya ekstratlarının ve DNA'nın katılması ve çok iyi kalitede distile suyun kullanılması gerekmektedir.
- Gram pozitif bakterilerin üremesini baskılamak için penisilin, Gram negatif bakterilerin ve mantarların üremesini engellemek amacıyla Thallium asetat ilave edilmedir.
- Mycoplasma etkenlerini L-formlarından ayırmak için bazı yöntemlere başvurmak gerekir.
- L-formları, penisilin veya buna benzer maddelerin etkisiyle bakterilerin hücre duvarı sentezinin önlenmesi sonu oluşan şekilsiz etkenlerin oluşturdukları koloni formlarıdır.
- Bu koloni formları da mycoplasma kolonileri gibi ortası düğmeli görünümündedir.
- Bu nedenle antibakteriyel madde içermeyen ortamlara şüpheli kolonilerin pasajının yapılması ya da Dienes boyama yöntemi ile kolonilerin boya özelliğinin incelenmesi gerekir.
- L- formaları ise ait oldukları etkenin koloni morfolojisinin görünümünü gösterir.

■Mycoplasma kolonileri Dienes boyası ile boyandığında dekolore olmaz iken, L-formu koloniler 15 dakika içinde dekolore olmaktadır.

■Acholeplasma ve ureaplasmalardan digitonin duyarlılık ve üreaz testleriyle ayırt edilen Mycoplasma türlerinin identifikasyonunda, glukoz fermentasyonu, arginin hidrolizi, fosfataz aktivitesi ve tetrazolium redüksiyonu gibi biyokimyasal testlerden yararlanılır.

■İn vitro ortamlar dışında Mycoplasmaları embriyolu yumurtalarda ve hücre kültürlerinde de (HeLa, tavuk kalbi fibroblast ve diğer hücreler) üretmek mümkündür.

■Mycoplasma etkenleri ekstraseluler etkenlerdir. Ancak vücut içine özellikle müköz membranlara bazılarının tutunma özellikleri vardır. Ayrıca konakçı hücrelerinin ölümüne neden olan ya da oluşturdukları infeksiyonların kronikleşmesinde önem taşıyan hemolizin, proteaz ve diğer bazı toksik maddeler sentezlerler.

Teşhis

■A-Klinik Teşhis

■Hastalığın, klinik bulgularına bakarak kesin teşhise varmak genellikle çok güçtür. İnfeksiyon pnömoni, pastörellozis, sığırların IBR infeksiyonları, parazitik pnömoni, travmatik pericarditis, tuberculosis gibi diğer hastalıklarla karışabilir.

■B-Nekropsi Bulguları

■Yukarda açıklanan nekropsi tablosu da kesin teşhis için her zaman yeterli değildir. Akciğerlerde rastlanan bozukluklar pastörellozis, nekrobasillozis ve embolik nekrozlarda da görülebilir.

■C-Laboratuvar Muayeneleri

■Hastalardan alınan kan, ölen hayvanlardan lezyonlu akciğer parçaları ve plörada toplanan sıvı muayene için gönderilir.

■**1-Bakteriyoskopi:** Lezyonlu akciğer veya plöra sıvısından yapılan ve Giemsa ile boyanan preparatlarda etkeni görmek ve buna dayanarak kesin bir tanıya gitmek olanaksızdır.

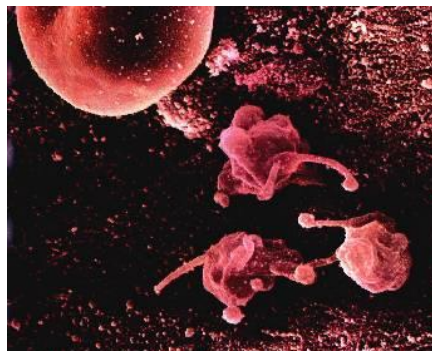
■Fluoresan antikor tekniği ve ELISA, etkeni saptamada yardımcı olabilirler.

■2-Kültür:

■Akciğer dokusu süspansiyonlarından ve plöra sıvısından katı ve sıvı ortamlara ekimler yapılarak %5-10 CO₂'li ortamda 37°C' de bir hafta süre ile inkubasyona bırakılırlar.

■Katı ortamda üreyen ve ortası düğmeli gibi görülen koloniler, agarla birlikte alınarak sıvı PPLO besi yerlerine ekilir ve saf kültürleri yapılır.

■Sıvı besi yerlerinde üretilen saf kültürlerden de Giemsa ile boyamalar yapılır ve incelenir. Mikroskop altında, belli bir şekli olmayan, oval, kokoid, halka, vs formların görülmesi PPLO' dan şüphelendirir. İdentifikasyon için gerekli biyokimyasal testler yapılır



Mycoplasma türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Ricketsia, Chlamydia ve Chlamydophila infeksiyonlarında teşhis metotları
Yapılacağı hafta	14
Uygulamanın temel hedefi	Ricketsia, Chlamydia ve Chlamydophila infeksiyonlarında teşhis metotları
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

UYGULAMA BİLGİSİ
- Gram negatif, zorunlu hücre içi (R.quintana hariç) bakterilerdir. Pleomorfizm gösterirler. - Hareketsizdir. - Canlı hücre içinde bölünerek çoğalmaları ve eklem bacaklılarda hayatlarının mutlak bir bölümünü geçirmeleri önemli karakteristik özellikleridir. •Birçok riketsiya Proteus vulgarisin OX 19, OX 2 , OXk antijenleri ile çapraz reaksiyon veren antijenlere sahiptir. •Hasta serumunda Proteus bakyeleri ile çapraz reaksiyon veren antiriketsiyal antikorları aramaya yönelik Weil-Felix testi bu çapraz reaksiyona dayanır. •Konak endotel hücrelerinde yerleşir. Damar duvarında harabiyet ve tromboz meydana gelir. Periferden merkeze doğru yayılarak vaskülit meydana getirirler. •Vaskülit deri döküntülerinden organlardaki kanamaya kadar olan klinik tabloyu açıklar. Benekli ateş grubu •R.ricketsii •Temel patoloji deri ve organlarda yaygın vaskülit görülmesidir. •Kayalık Dağlar Ateşi. (3/1.000.000) •Tedavi edilmezse ölüm oranı %95 'e ulaşabilir. •2-12 gün kuluçka süresi •Aniden başlayan ateş, baş ağrısı, yorgunluk, üşüme. Makülopapüler deri döküntüleri •GİS yakınmaları, artralji, konjunktivit, boyun sertliği, periorbital ödem görülür. •Vaskülit , kalp, Karaciğer, böbrek yetmezliği ile lüm gelişebilir. •Tanıda IFA ile antikor ölçümü ve PCR kullanılır. •İnfeksiyon geçişinde İxodes cinsi keneler sorumludur. •Klamidyalar yeterli enzimleri olmadığından ve metabolizmaları için gerekli enerji bileşiklerini sentezleyemedikleri için konak hücrenin ADP ve ATP'sine gerek

duyarlar.

- Yalnız canlı hücre içinde çoğalırlar.
- Özel hücre kültürlerinde, embriyonlu yumurta sarı kesesinde veya deney hayvanlarında üretilebilirler.
- Isıyla hızlı şekilde inaktive olurlar.
- Eterle 30'da , fenolle 24 saatte inaktive olmalarına rağmen, klorlanmış yüzme havuzunda 24 saat canlı kalırlar.

TEŞHİS

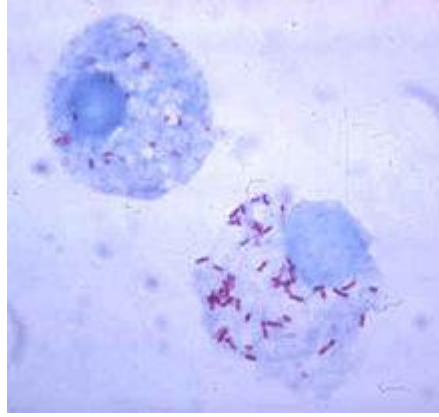
1. KLİNİK VE NEKROPSİ BULGULARI

2. LABORATUVAR MUAYENELERİ

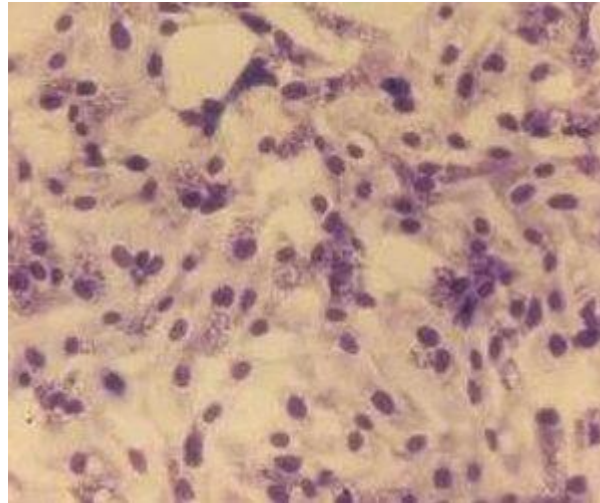
A. Bakteriyoskopi:

Giemsa veya Modifiye Ziehl-Neelsen (Stamp) teknikleri ile boyanarak ışık mikroskopunda incelenir.

Giemsa ile mor, Stamp boyama ile pembe renkte tek tek veya kümeler halinde (hücre içinde ve dışında) elementer cisimcikler veya hücre içinde inklüzyonları



Riketsia türlerinin mikroskopik görünümü



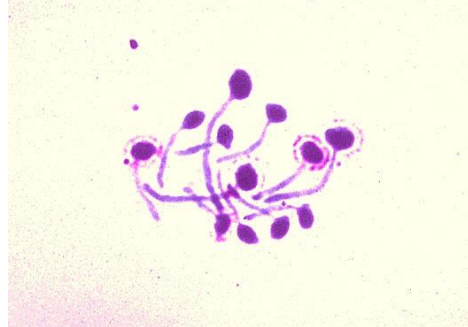
Klamidya türlerinin mikroskopik görünümü

Uygulamanın adı	Mantarlarda izolasyon, identifikasyon prosedürü, mantarların boyanması ve incelenmesi
Yapılacağı hafta	15
Uygulamanın temel hedefi	Mantarlarda izolasyon, identifikasyon prosedürü, mantarların boyanması ve incelenmesi
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Besiyeri, öze, öze ucu, lam, serum fizyolojik, mikroskop, bünzen beki, gram boyama seti, mikroskop, bakteri kültürü, dezenfektan, alkol, pamuk.
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Uzun kollu önlük, plastik gözlük, koruyucu maske, lateks eldiven.

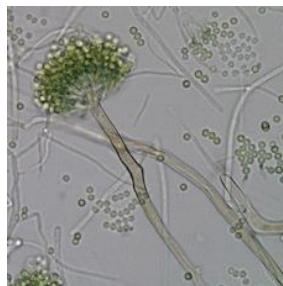
UYGULAMA BİLGİSİ

Mantarların incelenmesi

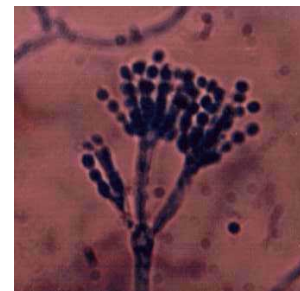
- Gram boyama: tüm mantarlar Gram olumludur.
- Laktofenol pamuk mavisi yöntemi
- Laktik asit 20 ml
- Fenol kristal 20 gr
- Gliserin 40 ml
- Saf su 20 ml
- Pamuk mavisi (Poirrier mavisi) 0.075 gr
- Saf su, Laktik asit ve Gliserin karıştırılır. Isıtılırken Fenol kristalleri eklenir boya atılır ve eritilir.
- Lam üzerine bir damla % 96 lık etil alkol konur. İğne ile bir miktar kültür alıp ezilir
- Bir damla boya damlatılıp lamel kapatılır
- X40 büyütmede mantar elemanları açık mavi boyalı olarak görülür
- Saydam bant-Laktofenol pamuk mavisi yöntemi: saydam banttan 3 cm kesilerek yapışkan yüzü alt tarafa gelecek şekilde bir penset ile tutularak mantar kolonisine dokundurulur (küflerde)
- Üzerinde bir damla boya olan lam üzerine yapıştırılarak X40 büyütmede incelenir
- Cryptococcus neoformans ve Histoplasma capsulatum gibi kapsüllü mantarların incelenmesinde çini mürekkep ile yaş preparat hazırlanır
- KOH ve NaOH preparatları
- Kıl, deri, tırnak gibi keratinize dokunun mantar infeksiyonlarında mantar aramasında kullanılır
- Örnek bölgesi etil alkol ile silinir. Bistüri ile kazıntı alınır. Materyal üzerine bir damla % 15 lik KOH veya NaOH eriyiği damlatılıp lamel kapatılır. Altan hafifçe ısıtılır
- X40 büyütmede hifler, sporlar vs mantar elemanları görülür.



Candida etkenleri



Aspergillus etkenleri



Penicillium etkenleri