



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2013; 27 (1): 1 - 5
<http://www.fusabil.org>

Listeriyozisli Koyunlarda Klinik, Patolojik ve Mikrobiyolojik Bulgular

Songül ÇERİBAŞI¹
Ömer KIZIL²
Murat KARAHAN³

¹Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

³Cumhuriyet Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Sivas, TÜRKİYE

Bu çalışmada, listeriyozisli koyunlarda klinik, patolojik ve mikrobiyolojik bulguların bildirilmesi amaçlandı. Çalışma materyalini, anamnezde sinirsel belirtiler ve ölüm görüldüğü bildirilen, silajla beslenen bir sürüden 25 adet koyun oluşturdu. Hasta hayvanlarda klinik olarak sinirsel semptomlar, iştahsızlık, yavru atma, konjuktivitis, depresyon gibi bulgular saptandı. Hasta koyunlarda kan, yem, süt ve dışkı örnekleri alındı. Biyokimyasal parametreler, koyunlar için bildirilen referans değerler arasında saptandı. Şiddetli klinik bulgu gösteren 3 koyunda nekropsi yapılarak, beyin ve medulla spinalis'ten alınan doku örneklerinde PCR işlemi uygulandı. Özellikle beyinde, ponsta, medulla oblongata'da ve gri maddede önemli histopatolojik değişimlere rastlandı. Üç koyuna ait beyin örneklerinden *Listeria* Isolation Medium (Oxford formülasyonu) agar'da siyah koloni oluşturan *Listeria* spp. şüpheli izolatlar elde edildi. Kültür pozitif örneklerin tür spesifik PCR analizinde tüm izolatlar *L. monocytogenes* olarak tanımlandı.

Anahtar Kelimeler: *L. monocytogenes*, koyun, klinik bulgu, mikrobiyoloji, patoloji.

The Clinical, Pathological and Microbiological Findings in Sheep with Listeriosis

The aim of this study was to report the clinical, pathological and microbiological findings in the sheep with listeriosis. Twenty-five sheep that had neurological symptoms and mortality constituted the material of the study. The clinically anorexia, abortion, conjunctivitis, depression and neurological signs were determined in the diseased animals. The blood, feed, milk, and feces samples were taken from the sick sheep. The biochemical parameters were between the reference values for sheep. The necropsy was carried out in three sheep, and PCR was applied to the samples of brain and spinal cord. The histopathological changes were seen especially in the brain, pons, medulla oblongata and grey matter. *Listeria* spp. suspected isolates, as indicated by black colonies on the *Listeria* Isolation Medium (Oxford formulation) agar plates were obtained from three sheep brain samples. In the analysis of culture positive samples by species-specific PCR, all isolates were identified as *L. monocytogenes*.

Key Words: *L. monocytogenes*, sheep, clinical findings, microbiology, pathology.

Giriş

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*); gram pozitif, fakültatif hücre içi bir bakteridir. Etkenin 7 serotipi ve 14 subtipi tanımlanmıştır. Koyunlarda listeriyozis *L. monocytogenes* 1/2, 3, ve 4 serotipleri ve *L. ivanovii* ile meydana gelir (1-4). Evcil hayvanlarda listeriyozis klinik olarak ensefalitis, gebeliğin geç dönemlerinde abortus ve plasentitis ya da hepatitis, splenitis, pnömoni ve gastrointestinal septisemi şeklinde ortaya çıkar (5-7).

Listeriyozise karşı koyunlar sığırlara göre daha duyarlıdır (8). Yetişkin koyunlarda merkezi sinir sistemini en çok etkileyen bakteriyel hastalığın *L. monocytogenes* kaynaklı olduğu vurgulanmıştır (9). Beş haftalıktan küçük kuzularda septisemik form gelişirken, 4-8 aylık kuzularda ensefalitis ortaya çıkabilir (5, 10). Bu karakteristik hareketten dolayı dönme hastalığı olarak da isimlendirilir (11). Sinirsel lezyonlar genel olarak tek taraflı şekillenir. Ölüm genellikle klinik bulguların başlamasından sonraki 2-3 gün içinde ortaya çıkar. Abortus ve ölü doğumlar genel olarak ileri gebelik dönemlerinde gözlenir. Abortus formu gelişen bazı gebe koyunlarda iştahsızlık ve ateş dışında başka bir semptomla rastlanmaz (5, 10, 12, 13).

Ani yem değişikliği, sürüye yeni hayvan girişi, kalabalık, diş değiştirme, sindirim kanalı epitelinin etkileyen viral ve bakteriyel hastalıklar gibi stres faktörleri listeriyal enfeksiyona duyarlılığı artırabilir (2,14-16). Özellikle kuraklığı takip eden dönemlerde fazla yağış, soğuk ve yetersiz havalandırma hastalık için diğer hazırlayıcı faktörleri oluşturur (17).

Hastalıkta klinik semptomlar şüphe uyandırmakla birlikte, kesin teşhiste postmortem olarak bakteriyolojik kültürün yapılması, gram boyama, immunohistokimya ve PCR'in kesin tanıda gerekli olduğu ifade edilmektedir (4, 5, 9, 12).

Yazışma Adresi Correspondence

Songül ÇERİBAŞI
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

songulozer@firat.edu.tr

Bu çalışmada, *L. monocytogenes* enfeksiyonu teşhis edilen bir koyun sürüsündeki klinik, patolojik ve mikrobiyolojik bulguların tanımlanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma materyalini Elazığ ili Karakoçan ilçesinde, anamnezde son bir ay içinde sinirsel belirtiler ve ölüm (15 koyun) görüldüğü bildirilen bir sürüdeki 3-4 yaşlarında Akkaraman ırkı 25 koyun oluşturdular. Anamneze göre, son bir ay içerisinde benzer klinik bulgu gösteren 15 koyunun öldüğü sürü sahibi tarafından belirtildi. Sürünün 15 gün önce meraya çıktığı, meraya çıkmadan önce yaklaşık 2 ay sürele mısır silajı ile beslendiği ifade edildi. Hasta koyunların fiziksel muayeneleri yapıldı ve elde edilen bulgular kaydedildi. Klinik bulgu gösteren tüm koyunlardan kan, süt ve dışkı örnekleri alındı. Hastaların v. jugularis'lerinden EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri, 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek plazmaları çıkarıldı ve biyokimyasal analizlerde kullanılmaya kadar -20°C'de saklandı. Biyokimyasal analizler (Glikoz, BUN, total protein, albumin, total bilirubin, trigliserid, AST, ALP, CK, Ca, Mg, Na ve K) ticari test kitleri kullanılarak otoanalizör ile (Olympus AU 600, Optical Co Ltd., Japan) belirlendi. Alınan kan, süt ve dışkı örneklerinden selektif besi yerlerine ekimler yapıldı. Benzer şekilde silodan alınan silaj örneklerinde de bakteriyolojik ekim gerçekleştirildi. Durumu kötü olan 3 adet koyun, sodyum pentobarbütal anestezisi eşliğinde ötenazi edilerek sistemik nekropsileri gerçekleştirildi. Karaciğer, böbrek, dalak, beyin, beyincik ve beyin sapı örnekleri ikiye bölünerek, bir kısmı mikrobiyolojik analizlerde kullanılırken, diğer kısmı ise önce % 10'luk tamponlu formalin solusyonunda tespit edildi. Dokular rutin işlemlerden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler, Hematoxylin-Eosin (HE) ile ayrıca sentral sinir sisteminden alınan kesitler Hucker-Conn gram boyama yöntemine göre boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (18, 19).

Nekropsi sonrasında beyin ve medulla spinalisten alınan doku örnekleri önce *Listeria* Enrichment Broth (LEB, LabM; İngiltere) içerisinde 30°C'de 48 saat süreyle selektif zenginleştirmeye bırakıldı. Zenginleştirme işleminin ardından Oxford formülasyonlu *Listeria* Isolation Medium (LabM; İngiltere)'a ekim işlemi gerçekleştirildi. Besi yerleri 37°C'de 48 saat inkubasyonun ardından kontrol edildi ve siyah koloni oluşturan koloniler *Listeria* spp. şüpheli kabul edilerek polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile identifikasyon amacıyla saf olarak izole edildi.

PCR işlemi amacıyla öncelikle *Listeria* spp. şüpheli olarak izole edilen kolonilerden klasik Proteinase K - Fenol: Kloroform: İzomilalkol ekstraksiyon yönteminden yararlanıldı. Ekstrakte edilen DNA'lara uygulanan PCR işleminde Border ve ark. (20) tarafından bildirilen *listeriolysin* genine spesifik (LM1-CCTAAGACGCCAATCGAA ve LM2-CGCTTGCAACTGCTC) primerler kullanıldı. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi neticesinde oluşan 702 bp moleküler uzunluğundaki bantlar *L. monocytogenes*'in göstergesi olarak kabul edildi. PCR uygulamalarında pozitif kontrol olarak ATCC 35152 *L. monocytogenes*, negatif kontrol olarak steril distile su kullanıldı.

Bulgular

Etkilenen hayvanlarda klinik olarak sinirsel semptom (2/25), iştahsızlık (14/25), yavru atma (3/25), zayıflama (6/25), konjunktivitis (7/25), depresyon (12/25) ve ayağa kalkamama (4/25) gibi bulgular saptandı. Koyunlardan birinde opistotonus ile birlikte tek taraflı olarak sol üst göz kapağının paraliz nedeniyle aşağı düştüğü gözlemlendi (Şekil 1A). Ayrıca iki hayvanda aşırı salivasyon ile birlikte alt dudakta sarkma dikkati çekti (Şekil 1B).

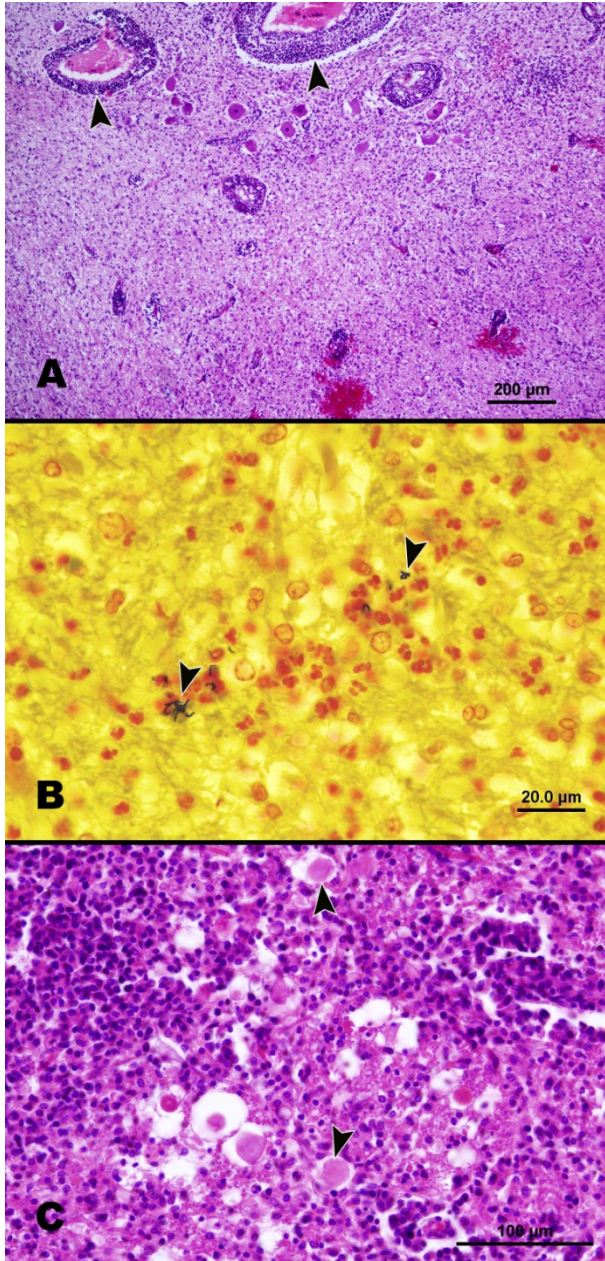


Şekil 1. A. Tek taraflı göz kapağı felci (ok başı). **B.** Alt dudakta sarkma (ok başı).

Biyokimyasal olarak incelenen parametrelere ait sonuçların gösterildiği Tablo 1 incelendiğinde, saptanan değerler sağlıklı koyunlar için verilen normal referans aralıklarda idi ve dikkat çekici bir değişime rastlanılmadı.

Tablo 1. *L. monocytogenes* enfeksiyonlu koyunlarda saptanan bazı biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri (O), standart sapmaları (SD) ve referans değerler

Parametreler	O ± SD	Referans Değer	Parametreler	O ± SD	Referans Değer
T. protein (mg/dl)	6.28 ± 0.7	↔ (5.9 – 7.8)	CK (U/L)	67.5 ± 7.8	↔ (7.7 – 100.1)
Albumin (mg/dl)	2.87 ± 0.1	↔ (2.7 – 3.7)	BUN (mg/dl)	19.02 ± 2.8	↔ (10 – 26)
T. Bil (mg/dl)	0.32 ± 0.02	↔ (0.0 – 0.5)	Ca (mg/dl)	9.47 ± 1.1	↔ (9.3 – 11.7)
Glukoz (mg/dl)	52.9 ± 8.6	↔ (44 – 81)	Mg (mg/dl)	2.14 ± 0.1	↔ (2.0 – 2.7)
AST (U/L)	120.7 ± 9.5	↔ (49 – 123)	Na (mEq/L)	151.5 ± 14.8	↔ (142 – 160)
ALT (U/L)	40.8 ± 5.7	↔ (15 – 44)	K (mEq/L)	5.56 ± 0.8	↔ (4.3 – 6.3)

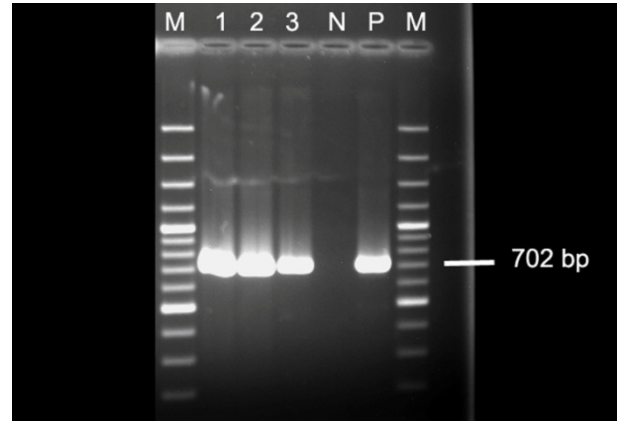


Şekil 2-A. Medulla oblongatada şiddetli perivasküler hücre infiltrasyonları (ok başları). HE, Bar = 200 µm. **B.** Mikroapse odağında, serbest ve nötrofil sitoplazması içindeki *L. monocytogenes* etkenleri (ok başları). Hucker-Corn Gram Boyama, Bar = 20 µm. **C.** Beyin sapındaki mikroapse odakları ile birlikte dejeneratif aksonlarda sferoid formasyonları (ok başları), HE, Bar = 100 µm.

Nekropside makroskopik olarak meningeal damarların dolgun, sulkusların ise yer yer donuk bir görünüm aldığı gözlemlendi. Mikroskopik olarak; beyinde pons ve medulla oblongatada aksonal dejenerasyon, malasi odakları ve mikroapse formasyonları ile karakterize şiddetli purulent ensefalitis dikkati çekti. Malasi odaklarında nötrofil lökositler ile birlikte

sitoplazmalarında çok sayıda vakuol içeren gitter hücreleri mevcuttu. Çok sayıda perivasküler boşluğun çoğunluğu mononükleer hücreler daha az olarak da nötrofil lökositler ile dolu olduğu gözlemlendi (Şekil 2A). Submeningial yerleşim gösteren nötrofil infiltrasyonları, ödem ve hiperemi ile karakterize fokal meningitis saptandı. Gri madde içerisindeki küçük ve orta çaptaki damarlarda diapedezis mevcuttu. Gram boyamada mikroapse odaklarının merkezindeki nötrofillerin sitoplazmasında ve serbest halde az sayıda ufak koyu mor-siyah renkte gram pozitif bakteri çomakları tespit edildi (Şekil 2B). Serebellum foliolarında şiddetli hemoraji dikkati çeken bir değişimdi. Medulla oblongata'daki perivasküler hücre infiltrasyonlarının, pons bölgesine göre daha şiddetli olduğu gözlemlendi. Medulla bölgesinde mikroapse formasyonları arasında aksonal dejenerasyona ilişkin eozinofilik ve şişkin görünümde sferoid formasyonlar tespit edildi (Şekil 2C).

Üç koyuna ait beyinden alınan örneklerin Oxford formülasyonlu *Listeria* Isolation Medium (LabM, İngiltere)'de siyah koloni oluşturarak *Listeria* spp. şüpheli olarak belirlenen izolatlarla uygulanan PCR amplifikasyonu neticesinde şüpheli izolatların tamamında pozitif kontrolle aynı moleküler uzunluğa sahip 702 bp'lık amplifikasyon ürünleri gösterdikleri tespit edildi (Şekil 3)



Şekil 3. *Listeria* spp. olarak identifiye edilen şüpheli izolatların *L. monocytogenes*'e spesifik PCR amplifikasyonları neticesinde agaroz jeldeki görünimleri. M: 100 bp DNA Ladder (Fermentas, SM0321), 1-3: *L. monocytogenes* olarak şüphelenilen koloniler, N: Negatif Kontrol (Steril distile su), P: Pozitif Kontrol (ATCC 35152 *L. monocytogenes*).

Tartışma

Listeriyozis, fakültatif hücre içi Gram (+) bir patojen olan *L. monocytogenes*'in neden olduğu (21, 22), zoonotik özelliği yanı sıra özellikle koyun gibi ruminantlarda meningoensefalitis, sepsis, abortus ve ölümlere neden olarak ekonomik kayıplara yol açan önemli bakteriyel bir hastalıktır (5, 23). Bu nedenle hastalığın tanısının en kısa sürede ve tanısız duyarlılığı yüksek tekniklerle yapılması büyük önem arz etmektedir.

Sürüdeki tüm koyunlar *Listeria* spp. ile enfekte olsalar dahi, doğal direnç nedeniyle ancak % 5-10'unda hastalığa ilişkin klinik belirtilerin ortaya çıktığı ifade edilmiştir (17). Hayvanlarda gözlenen çoğu vaka subklinik olmasına rağmen listeriyozis sporadik veya epidemik karakterde olarak (24) yaşamı tehdit eden sepsisemi ve meningitislere de neden olabilir (5, 25). Ruminantlarda listeriyozis tipik olarak etkenle kontamine silaj veya diğer yem maddelerinin tüketilmesinden sonra oluşmaktadır. Enfeksiyonun özellikle kış aylarında hayvanlara silajın daha fazla yedirilmesi nedeniyle kış - ilkbahar aylarında ortaya çıktığı vurgulanmıştır (5, 8, 26). Bu çalışmada da, koyunlara yedirilen silaj örnekleri alınarak mikrobiyolojik ekimleri yapılmış ve ekim sonucunda *Listeria* spp. üretilmiştir. Bu nedenle de sürüde ortaya çıkan olayda enfeksiyon kaynağının silaj olduğuna karar verilmiştir. Ek olarak sunulan çalışmada literatür bilgilerine (5, 11, 12) uyumlu olarak *L. monocytogenes* enfeksiyonu silaj tüketimi takiben Nisan ayında ortaya çıkmıştır.

Listeriyozisli koyunlarda klinik olarak ensefalitis, sepsisemi ve abortuslar gözlenmektedir. Bu semptomlara ek olarak depresyon, iştahsızlık, ateş ve ölümler görülebilir. Ruminantlarda hastalığın en yaygın bulgusu olan ve dönme hastalığı olarak isimlendirilmesine neden olan ensefalitik formda, ayrıca başı bir yere dayama, bir tarafa doğru bükme ve tek taraflı fasiyal felçlerde dikkati çeker (5, 27, 28). Çalışmada klinik olarak etkilenen 25 koyunda saptanan bulgulardan, iştahsızlık (14 adet), yavru atma (3 adet), zayıflama (6 adet), opistotonus (1 adet), tek taraflı sol üst göz kapağının paralizisi (1 adet) ve aşırı salivasyon ile birlikte alt dudakta sarkma (2 adet) hastalıkta gözlenebilen semptomlarla uyumlu bulunmuştur.

Patolojik olarak listeriyozisli hayvanlarda beyinde dikkat çekici makroskobik lezyonlar nadir olarak gözlenmektedir. Ancak ensefalitik formda serebrospinal sıvıda bulanıklık ve meningeal damarların konjesyonu dikkati çekebilir. Çalışmada listeriyozis saptanan koyunların nekropsisinde iç organlarda makroskobik herhangi bir değişime rastlanmamıştır. Makroskobik olarak sadece göz kapağı felci bulunan hayvanda meningeal damarların dolgun, sulkusların ise yer yer donuk bir görünüm aldığı gözlenmiştir.

Ensefalitik listeriyozis enfeksiyonlarında histopatolojik olarak merkezi sinir sisteminde perivasküler lenfosit, histiyosit, plazma hücreleri ve daha az olarak nötrofilleri içeren yangısal hücreler gözlenmektedir (12, 29, 30). Ek olarak medulla ve ponsa malasi ile birlikte parankimal mikroapseler gözlenebilir (12, 29). Bu tip lezyonlarda, bakteriler fagositler içerisinde veya nekrotik alanlar etrafındaki beyin parankiminde serbest olarak nispeten bol miktarda bulunur (29, 30). Sunulan çalışmada ise, beyinde pons ve medulla oblongata'da aksonal dejenerasyon, malasi odakları ve mikroapse formasyonları ile karakterize şiddetli purulent ensefalitis dikkati çekmiştir. Çalışmada listeriyozisli koyunlarda saptanan bulgular yukarıda ifade edilen literatürlerle uyumlu bulunmuştur. Ek olarak

serebellum folialarında şiddetli hemoraji saptanmış ve medulla oblongata'daki perivasküler hücre infiltrasyonlarının pons bölgesine göre daha şiddetli olduğu gözlenmiştir.

Listeriyozis sadece *L. monocytogenes*'in izolasyonu ve identifikasyonu yoluyla doğrulanabilir (5). Listeriyozisin teşhisinde klinik bulgular, beyindeki histopatolojik lezyonlar ile enfekte dokulardaki organizmaların izolasyonu ve identifikasyonu temel teşkil etmektedir. Sepsisemi veya ensefalitisli hayvanlarda kan ve serebrospinal sıvı kültürleri yapılabilir. Dokulardaki listeriya etkenleri biyokimyasal ve enzimatik reaksiyonlara dayalı çok sayıda ticari hızlı teşhis metotlarıyla ortaya konabilir. ELISA, immunofloresan, immunokromatografi ve PCR bu teknikler arasında yer almaktadır (23). Serolojik yöntem rutin teşhis yöntemleri arasında yoktur. Çünkü çoğu sağlıklı hayvan yüksek listeriyal titreye sahip olabildiği gibi, enterokoklar ve *Staphylococcus aureus* gibi diğer mikroorganizmalarla çapraz reaksiyonlar gelişebilir (23, 31, 32). Gram boyama ile dokulardaki bakterilerin zor tespit olabileceği vurgulanmış, listeriyozisin teşhisinde immunohistokimyanın tercih edilebileceği ifade edilmiştir. Loeb (33), bakteri kültürünün %28.5, gram boyamanın %47.6, immunohistokimyanın ise %80.9 oranda duyarlı olduğunu bildirmiştir (33).

Her ne kadar hastalığın teşhisinde klinik ve patolojik bulgular değerli olsa da kesin tanı açısından hastalıklı organlardan etken izolasyonu ve moleküler konfirmasyonu büyük öneme sahiptir. Bununla birlikte bakteriyolojik kültür işlemlerinin uzun zaman alması ve zahmetli olması gibi dezavantajları vardır. Son yıllarda konvansiyonel yöntemlere alternatif olarak, spesifitesi-sensitivitesi yüksek, daha hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edilen PCR metodu listeriya etkenlerinin identifikasyonunda çok yoğun olarak kullanılmaktadır (34). Mevcut çalışmada hem klinik olarak hasta koyunlardan alınan kan, süt ve dışkı örneklerinden hem de silodan alınan silaj örneklerinden selektif besi yerlerine bakteriyolojik ekimler yapılarak listeriyal etkenler üretilmiştir. Ayrıca karaciğer, böbrek, dalak, beyin, beyincik ve beyin sapı örnekleri de selektif zenginleştirmeye bırakılmış ve bu işlemin ardından Oxford formülasyonlu *Listeria* Isolation Medium (LabM; İngiltere)'a ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Besi yerlerinde siyah koloni oluşturan koloniler *Listeria* spp. şüpheli kabul edilerek PCR işlemine tabi tutulmuş ve bu işlemde 702 bp moleküler uzunluğundaki bantlar *L. monocytogenes*'in göstergesi olarak kabul edilmiştir. Hastalığın ayırıcı teşhisinde bakteriyolojik olarak etkenin ortaya konulması, *L. monocytogenes*'in izolasyonu ve identifikasyonu ile immunohistokimyanın gerekli olduğu ifade edilmiştir (5, 23, 31, 32). Mevcut çalışmada hem bakteriyel kültür, hem PCR ve hem de Gram boyama yapılarak etken ve muhtelif lezyonlar ortaya konularak hastalığın kesin teşhisi sağlanmıştır.

Sonuç olarak bu çalışma ile erişkin koyunlarda silaj tüketiminden kaynaklanan doğal *L. monocytogenes* ensefalitislerindeki klinik, patolojik, biyokimyasal ve

mikrobiyolojik bulgular sunulmuş, hastalığın kesin teşhisinde klinik, makroskopik ve histopatolojik değişimlerin yanı sıra bakteriyolojik kültür ve PCR'in

önemli teşhis metotları olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Kaynaklar

- Gouly E, Mengauo J, Cossart P. The virulence gene cluster of *Listeria monocytogenes* is also present in *Listeria ivanovii*, an animal pathogen, and *Listeria seeligeri*, a nonpathogenic species. *Infect Immun* 1994; 62: 3550-3553.
- Killinger AH, Mansfield ME. Epizootology of listeric infection in sheep. *J Am Vet Med Assoc* 1970; 157: 1318-1324.
- Low JC, Wright F, McLauchlin J, et al. Serotyping and distribution of *Listeria* isolates from cases of ovine listeriosis. *Vet Rec* 1993; 133: 165-166.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schrecken-Berger PC, Winn WC. *Diagnostic Microbiology*. 5th edition, Philadelphia: Lippincott company, 1997.
- Aiello SE, Mays A. *The Merck Veterinary Manual*. 8th edition, Philadelphia: Whitehouse Station NJ, Merck and Company, 1998.
- Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. *Veterinary Medicine, a Textbook of the Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. London, United Kingdom: W.B. Saunders Company Ltd, 2000.
- Wesley IV, Larson DJ, Harmon KM, Luchansky JB, Schwartz AR. A case report of sporadic ovine listerial meningoencephalitis in Iowa with an overview of livestock and human cases. *J Vet Diagn Invest* 2002; 14: 314-321.
- Wiedmann M, Arvik T, Bruce J, et al. Investigation of a listeriosis epizootic in sheep in New York State. *Am J Vet Res* 1997; 58: 733-737.
- Scott PR. A field study of ovine listerial meningoencephalitis with particular reference to cerebrospinal fluid analysis as an aid to diagnosis and prognosis. *Br Vet J* 1993; 149: 165-170.
- Summers BA, Cummings JF, De Lahunta A. *Veterinary Neuropathology*. Mosby: St. Louis, 1995.
- Nightingale KK, Fortes ED, Ho AJ, et al. Evaluation of farm management practices as risk factors for clinical listeriosis and fecal shedding of *Listeria monocytogenes* in ruminants. *J Vet Med Assoc* 2005; 227: 1808-1814.
- Low JC, Donachie W. A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Vet J* 1997; 153: 9-29.
- Milli Ü, Haziroğlu R. *Sinir Sistemi: Veteriner Patoloji 1*. Cilt. Ankara: Medipress, 2000.
- Fenlon DR, Wilson J, Donachie W. The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. *J Appl Bacteriol* 1996; 81: 641-650.
- Green LE, Morgan KL. Descriptive epidemiology of *Listeria* meningoencephalitis in housed lambs. *Prev Vet Med* 1994; 18: 79-87.
- Fenlon DR. Wild birds and silage as reservoirs of *Listeria* in the agricultural environment. *J Appl Bacteriol* 1985; 59: 537-543.
- Wesley IV. Listeriosis in animals. In: Ryser ET, Marth EH. (Editors) *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*. Second edition, New York: Marcel Dekker 1999: 39-74.
- Luna LG. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd edition, New York: McGraw-Hill, 1968.
- Hucker GJ, Conn HJ. *Methods of Gram-staining*. NY Agr Expt Sta Tech Bull, 1923; 128.
- Border PM, Howard JJ, Plastow GS, Siggins KW. Detection of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction. *Lett Appl Microbiol* 1990; 11: 158-162.
- Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes* a food borne pathogen. *Microbiol Rev* 1991; 55: 476-511.
- Malik SV, Barbuddhe SB, Chaudhari SP. Listeric infections in humans and animals in the indian subcontinent: a review. *Trop Anim Helat Prod* 2002; 34: 359-381.
- Hof H, Nichterlein T, Kretschmar M. Management of listeriosis. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 345-357.
- Roberts AJ, Wiedemann M. Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60: 904-918.
- Lorber B. Listeriosis. *Clin Infect Dis* 1997; 21: 1-9.
- Fenlon DR. Wild birds and silage as reservoirs of *Listeria* in the agricultural environment. *J Appl Bacteriol* 1985; 59: 537-543.
- Low JC, Donachie W. Clinical and serum antibody responses to lambs to infection by *Listeria monocytogenes*. *Res Vet Sci* 1991; 51: 185-192.
- Dennis S. M. Listeriosis (circling disease, silage sickness). In: Howard J L (Editor). *Current Veterinary Therapy*. 3th edition, Philadelphia: WB Saunders company 1993: 580-595.
- Charlton KM, Garcia MM. Spontaneous listeric encephalitis and neuritis in sheep. *Vet Pathol* 1977; 14: 297-313.
- Marco A, Ramos JA, Domínguez L, Domingo M, González L. Immunocytochemical detection of *Listeria monocytogenes* in tissue with the peroxidase-antiperoxidase technique. *Vet Pathol* 1988; 25: 385-387.
- Husu JR. Epidemiological studies on the occurrence of *Listeria monocytogenes* in the feces of dairy cattle. *J Vet Med [B]* 1990; 37: 276-282.
- Lida T, Kanzaki M, Maruyama T, Inoue S, Kaneuchi C. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in intestinal contents of healthy animals in Japan. *J Vet Med Sci* 1991; 53: 873-875.
- Loeb E. Encephalitic listeriosis in ruminants: immunohistochemistry as a diagnostic tool. *J Vet Med A* 2004; 51: 453-455.
- Olsen JE, Aabo S, Hill W, et al. Probes and polymerase chain reaction for detection of food-borne bacterial pathogens. *Int J Food Microbiol* 1995; 28: 1-78.