

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AĞRI-DİYADİN BÖLGESİNDE MYCOPLASMA AGALACTİAE'NİN
KOYUNLARDA SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Rüştü YAŞAR
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. İhsan KELEŞ

VAN-2008

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AĞRI-DİYADİN BÖLGESİNDE MYCOPLASMA AGALACTİAE'NİN
KOYUNLARDA SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Rüştü YAŞAR
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. İhsan KELEŞ

VAN-2008

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2006-SBE-112 nolu proje olarak desteklenmiştir.

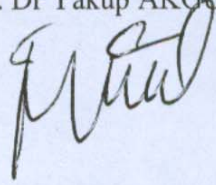
T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AĞRI-DİYADİN BÖLGESİNDE MYCOPLASMA AGALACTİAE'NİN
KOYUNLARDA SEROPREVALANSININ ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Rüştü YAŞAR
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

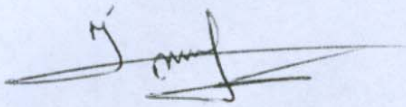
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Yakup AKGÜL



Üye

Prof. Dr. İhsan KELEŞ



Üye

Doç. Dr. Zabit YENER



TEZ KABUL TARİHİ

18/07/2008

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın tım aőamalarında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. İhsan KELEŞ'e, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Yakup AKGÜL'e, İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Zahid T. AĞAOĞLU'na ve Y.Y.Ü. Veteriner Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalının diğer Öđretim Üyeleri ve Araştırma görevlilerine, maddi desteklerinden dolayı da Y.Y.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

4. BULGULAR.....	17
Kabul ve Onay	II
Teşekkür	III
İçindekiler	IV
Simgeler ve Kısaltmalar.....	VI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Mycoplasmaların Genel Özellikleri.....	5
2.1.1. Patojenite.....	6
2.2. Bulaşma.....	7
2.3. Klinik Bulgular.....	8
2.4. Otopsi Bulguları.....	9
2.5. Ekonomik Önemi.....	10
2.6. Mycoplasma Agalactiae'nin Teşhisi.....	10
2.7. Mycoplasma Agalactiae'nin Tedavisi.....	11
2.8. Mycoplasma Agalactiae Enfeksiyonundan Korunma.....	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	14
3.1. Gereç.....	14
3.1.1. Hayvan materyali.....	14
3.1.2. Çalışmada kullanılan cihazlar.....	14
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Klinik muayene.....	14
3.2.2. Kan örneklerinin alınması.....	15
3.2.3. Serolojik analizin yapılması.....	15
4.1. Klinik Bulgular.....	17
4.2. Serolojik Bulgular.....	17
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	18
ÖZET.....	23
SUMMARY.....	24
KAYNAKLAR.....	25
ÖZGEÇMİŞ.....	30

SİMGE VE KISALTMALAR

CFT	: Complement Fixation Testi
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
M	: Mycoplasma
Mcc	: Mycoplasma capricolum subsp. capricolum
Mmm LC	: Mycoplasma mycoides subsp. mycoides LC
μm	: Mikrometre
OD	: Optikal Dansite
PCR	: Polimerase chain reaction
UV	: Ultra viole
%S/P	: Örneklerin pozitif kontrole oranı

1. GİRİŞ

Sütkesen hastalığı olarak da bilinen kontagiyöz agalaksiya *Mycoplasma agalactiae* tarafından oluşturulan bulaşıcı bir hastalıktır. Hastalık daha çok koyun ve keçilerde görülmesine rağmen nadir olarak diğer hayvanlarda da enfeksiyona neden olur. Hastalığın oluşmasında başka mikoplazma türlerinin de rolü olduğu bildirilmektedir. Bu hastalığa yakalanan hayvanlarda en yaygın klinik bulgular; mastitis, artrit ve keratokonjunktivitistir. Bu klinik semptomların dışında pnömoni ve gebe hayvanlarda abort da şekillenebilir. Mikoplazma enfeksiyonlarının teşhisinde etken izolasyonu oldukça güç ve zaman alıcıdır. O nedenle hastalığın insidansının belirlenmesi için serolojik çalışmaların yapılmasında yarar vardır.

Bütün dünyada yaygın olarak görülen bu hastalık ülkemizde, özellikle de koyun-keçi yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgemizde zaman zaman görülmektedir. Hastalık nedeni ile önemli ekonomik kayıpların meydana geldiği ve sadece yetiştirici açısından değil aynı zamanda ülke ekonomisini de olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Bu kadar öneme sahip olan bu hastalık hakkında bölgemizde yeterli bilimsel çalışma mevcut değildir. Hastalığın bölgemizde ki insidansının belirlenmesi bu hastalığa karşı mücadeleyi de daha etkin kılacağı varsayıldığından konunun bilimsel olarak ortaya konulması mücadele stratejisini de beraberinde getirecektir. Bu çalışma ile ayrıca hastalığın hangi yaş gruplarında ortaya çıktığı da belirlenerek hayvanların hastalığa yakalanmadan önce önlemlerin alınması önerilecektir.

Bölgemizin en önemli gelir kaynağı küçükbaş hayvancılığı olup, ekonomik kayıplara neden olan hastalıklarla mücadele de o derece önem arz etmektedir. *M. agalactiae*'da bu hastalıklardan biridir. Koyunlarda ve kuzularda önemli ekonomik kayıplara neden olan bu hastalığa karşı uygulanacak tedavi ve aşılama programlarının planlanması için hastalığın varlığının bilimsel yöntemlerle ortaya konması şarttır. Bu amaçla bölgemizde *M. agalactiae*'nin seroprevalansının araştırılması önem arz etmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

Kontagiyöz agalaksiya koyun ve keçilerin önemli bir sendromu olup; mastitis, artrit, keratokonjunktivitis ve nadiren abort ve pnömoni ile karakterizedir (Aytuğ ve ark., 1990; Lambert ve ark., 1998; Fleury ve ark., 2002; Anonim, 2004a; Anonim, 2006; Kızıl ve Özdemir, 2006). Hastalık Avrupa, Asya'nın batısında, Kuzey Amerika'da ve Afrika'da görülmektedir (Aytuğ ve ark., 1990; Pirali Kheirabadi ve Ebrahimi, 2007). Koyun ve keçilere has bir hastalık olup keçilerde koyunlara oranla daha fazla görülmektedir. Hastalığın asıl ajanı *Mycoplasma (M.) agalactiae* olmasına rağmen *M. capricolum subsp. capricolum (Mcc)*, *M. mycoides subsp. mycoides LC (MmmLC)* ve *M. putrefaciens* de benzer klinik semptomlar oluşturabilir ve bu etkenlerle meydana gelen enfeksiyonlarda klinik bulgular kontagiyöz agalaksiyanın bulguları ile benzerlik göstermektedir (Da Massa ve ark., 1987; Madanat ve ark., 2001; Corrales ve ark., 2007). Ayrıca, Güney Amerika kamelitlerinde (lama vs.) *MmmL* ve *Mcc*'ye karşı antikor tespit edilmiş, ancak etken henüz izole edilememiştir (Nicholas, 1998; Kızıl ve Özdemir, 2006).

Klinik olarak *M. agalactiae*'nin sebep olduğu hastalık; artan vücut ısısı, iştahsızlık, halsizlik, laktasyondaki hayvanlarda süt veriminde azalma, mastitis, topallık, eklemlerde şişlik ve ağrı, bazı hayvanlarda keratokonjunktivitis'in varlığı ile teşhis edilebilir. Gebe hayvanlar abort yapabilir. *M. agalactiae* pnömoniyeye de neden olabilir. Fakat pnömoni her zaman bulunan bir bulgu değildir. Bakteriyemi yaygındır (Bergonier ve ark., 1997; Loria ve ark., 1999). Hastalık bütün yaşlardaki hayvanlarda görülebilir, ancak gebe ve laktasyondaki hayvanlar hastalığa daha duyarlıdırlar (Damassa ve ark., 1992; Pirali Kheirabadi ve Ebrahimi, 2007). Hastalığın inkübasyon süresi 7-56 gün arasında değişir (Kızıl ve Özdemir, 2006). Kontagiyöz agalaksiyalı koyunlardan izole edilen etken genellikle *M. agalactiae*'dir (Pepin ve ark., 2003).

Meme sıcak, ödemli ve hassastır. Daha sonra meme kıvamını kaybeder, bağ doku ile dolar ve sonuçta atrofiye olur. Süt sarımsı veya mavimsi bir renk, tuzlu bir tat alır ve sulanır. Bekletildiği zaman üst kısmı gri mavi renk, alt kısmı ise sarımsı yeşil tabaka

şeklinde pıhtılaşır. Süt zamanla purulent hal alır ve sonuçta üretim tamamen durur (Madanat ve ark., 2001; Anonim, 2004b; Anonim, 2005; Anonim, 2006).

Eklemler etkilendiğinde metakarpus ve metatarsusu içeren artrit gelişir. Eklem şişer, ağrılıdır ve sinoviyal sıvıda artış meydana gelir. Kronik olgularda ise ankiloz gelişebilir. Bu da hayvanların topallamasına veya ayağa kalkamamasına neden olur (Madanat ve ark., 2001; Anonim, 2005; Anonim, 2006).

Göz formunda ise bir veya iki gözde lezyon şekillenir. Konjunktivalar kızamık ve ödemli, sıklara damarları dolgun, kornea bulanıktır. Kornea üzerinde ülser odakları görülebilir. Mukopurulent gözyaşı akıntısı vardır. Bazı hastalarda kornea ülserleri kapanmaz, derinlere iner ve kornea yırtılır. Göz küresi bütünüyle enfekte olur, irinli göz yangısı panoftalmi şekillenir. Sonuç olarak hayvan kör kalır (Langford, 1971; Aytuğ ve ark., 1990; Corrales ve ark., 2007; Nicholas ve ark., 2008).

Hastalıkta abort meydana geldiği bildirilmektedir. Abortlar sporadik veya salgınlar halinde görülebilir. Etkenin vulvovaginitli hayvanlardan ve purulent testiküler eksudattan izole edildiği bildirilmektedir (Gil ve ark., 2003; Corrales ve ark., 2007). Ayrıca etken, deneysel olarak *M. agalactiae* ile enfekte edilmiş koçların kan, semen, seminular sıvılar, testis ve epididimislerinden izole edilmiştir. Ejekulatın görünümünde de değişimlerin olduğu bildirilmektedir (Ak ve ark., 1995). Hastalıkta infertiliteye ilişkin bulguların geliştiği de bildirilmektedir (Nicholas ve ark., 2008).

Mikoplazmaya bağlı gelişen pnömoniler “yaz pnömonisi” olarak adlandırılmakta olup; uzun süren öksürükle karakterizedir. Hastalık özellikle genç hayvanlarda hafif öksürükle başlar ve şiddetli solunum güçlüğüne varan bulgularla kendini göstererek ölüme neden olabilir. Yetişkin hayvanlarda solunum sistemine ilişkin semptomlar diğer semptomların şiddetinden dolayı gözden kaçabilir. Ancak bu semptomlar hemen hemen tüm hayvanlarda mevcuttur (Corrales ve ark., 2007; Nicholas ve ark., 2008).

M. agalactiae küçük ruminantların yetiştirildiği bütün bölgelerde ortaya çıkabilir (Nascimento ve ark., 1986; Bergonier ve ark., 1997). Ancak, birçok ülkede mikoplazma hastalığının teşhisiyle ilgili yetersizliklerden dolayı rapor edilmemiş olabilir. Vakalar

genellikle sporadik olarak meydana gelir. Hastalık etkeni çevre koşullarına dirençlidir ve sürü içerisinde yavaş yavaş yayılır. Doğumdan sonra sütle yayılma riski artar, enfekte kolostrum ve sütü emen oğlak ve kuzular hastalanır. Sonuçta oğlaklarda ve kuzularda artrit ve pnömoniyle birlikte septisemi ve ölüm oranında artış gözlenir (Da Massa ve ark., 1983; Rodriquez ve ark., 1995; Nicholas, 2002).

Hastalığın kesin teşhisi, hasta hayvanlardan hastalığa neden olan mikoplazmaların izolasyonunu gerektirir. Standart mikoplazma medyumlarında etken izolasyonu yaygın olarak kullanılan bir metoddur. Ancak son zamanlarda etken izolasyonu hata payı son derece düşük Polimerase Chain Reaction (PCR) metoduna göre de yapılmaktadır (Dedieu ve ark., 1995; Tola ve ark., 1997; Suprahamaniam ve ark., 1998). Hastalığı geçiren hayvanlarda ise antikorlar serolojik olarak ortaya konulabilir. Etken izolasyonunda numune olarak; süt, göz ve kulak svapları ile eklem sıvısı tercih edilir (Nicholas ve Baker, 1998).

Hastalıkta oluşan antikorların tespiti, Complement Fixation Test (CFT) veya Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile çabuk bir şekilde yapılabilir. *M. agalactiae* yönünden sürülerin tarandığı kontrol programlarında indirekt ELISA rutin olarak kullanılmaktadır. Kontagiyöz agalaksiya yönünden negatif olduğuna inanılan bölgelerin araştırılmasında izolasyon ve identifikasyon şarttır (Anonim, 2004a; Schaeren ve Nicholet, 1982). Bazı araştırmacılar (Pepin ve ark., 2003) subklinik mikoplazma enfeksiyonlarının teşhisinde ELISA tekniğinin daha başarılı olduğunu bildirmektedirler. ELISA testinin; sonike edilmiş veya tween-20 ile muamele edilmiş antijenler kullanılarak yapıldığında *M. agalactiae*'ya karşı oluşan antikorların tespitinde CFT'den daha duyarlı olduğu rapor edilmektedir (Bergonier ve ark., 1997). ELISA'da gözlenen non-spesifik problemlerin üstesinden, monoklonal veya Protein-G konjugatlarının kullanılmasıyla gelinmiştir (Lambert ve ark., 1995). Bu konjugatların kullanımı, kamelitler dahil çeşitli memelilerin serumlarını test etme imkanını doğurmuştur. Günümüzde çok sayıda ticari ELISA kitleri kullanılmaktadır (Bergonier ve ark., 1997; Nicholas, 1998).

Mikoplazma enfeksiyonlarının tedavisinde; hasta hayvanları sağlıklı olanlardan ayırdıktan sonra mikoplazmalara karşı spesifik etkisi olan tiamulin ve tylosin gibi antibiyotiklerden yararlanılmaktadır (Aytuğ ve ark., 1990).

M. agalactiae'ya bağlı kontagiyöz agalaksiyadan korunmak için aşı uygulamaları yapılmalıdır. Bu aşilar Avrupa'nın Akdeniz ülkelerinde ve Batı Asya'da kullanılmaktadır (Anonim, 2004a). Canlı atenüe aşilar uzun yıllardan beri Türkiye'de kullanılmakta; koyun veya kuzularda inaktif aşilara göre daha iyi bir korunma sağladığı bildirilmektedir (Türkaskan, 1990). Ancak mikoplazmaların ifraz edilmesinden dolayı geçiş enfeksiyonu oluşturma ihtimali vardır. Canlı aşilar süt veren laktasyondaki hayvanlarda kullanılmamalıdır (Anonim, 2004a).

2.1. Mikoplazmaların Genel Özellikleri

Mollicutes sınıfından olan mikoplazmalar en küçük prokaryotik hücreler olup replikasyon yeteneğine sahiptirler. Molekül ağırlıkları 1×10^8 (4.5×10^8 - 1×10^9) daltondur. Mikoplazmalar genetik olarak hücre duvarına sahip değildirler. Bu organizmalar glikoprotein, glikolipid ve fosfolipitten oluşan (trilaminar) bir plazma membranı ile çevrilmişlerdir (Quinn ve ark., 1994; Koneman ve ark., 1997; Madanat ve ark., 2001; Corrales ve ark., 2007). Hücre duvarı olmadığı için farklı form ve şekillere girebilirler. Hücreler kok, spiral, filament ve yüzük formları alabilirler. Bazıları binary fuzyon ile bölünürken bazıları da uzun formlarının kırılması ile yuvarlak formlara dönüşerek bölünürler. Bölünme sonucu minimum çapları $0.3 \mu\text{m}$ 'dir. Ancak katlanabilir özellikleri olduğundan $0.22 \mu\text{m}$ 'lik filtreden geçebilirler (Quinn ve ark., 1994). Düşük genetik "IQ" ya sahip olduklarından biyosentetik kapasiteleri sınırlıdır. Bu yüzden mikoplazmaların üretimi için nükleik asit, protein ve lipid içeren zenginleştirilmiş medyalara ihtiyaç vardır. (Koneman ve ark., 1997). Agar besi yerlerinde karakteristik olarak "yağda yumurta kızartması" şeklinde mikro koloniler oluştururlar. Çoğu fakültatif anaerob organizmalardır. Gram negatif olmalarına karşın gram boyama ile çok az boyanırlar. Ancak Giemza ve diğer Romanowsky boyaları ile daha iyi boyandıkları bildirilmektedir (Quinn ve ark., 1994). Mikoplazmalar ozmotik şoka, deterjanlara, yüksek ısıya, ultra viole (UV) ışınlarına ve yaygın olarak bilinen dezenfektanlara duyarlıdırlar. Spesifik antikorlar tarafından tahrip edilirler. Mikoplazmalar çok sayıdaki sıvı ya da katı medyalarda, 37°C 'de kültürleri yapılabilir. Katı medyalarda rutubetli bir atmosfer ve %5'lik CO_2 ' ye ihtiyaç duyarlar. Koloni ölçüleri küçük olup, tipik olarak "yağda

kızartılmış yumurta” görünümündedirler. Bazı türler, örneğin *M. agalactiae* kanlı agar gibi bakteri medyumlarında çoğaltılabilirler (Corrales ve ark., 2007).

2.1.1. Patojenite

Diğer bakteriel etkenlerle kıyaslandığında mikoplazmaların patojeniteleri ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Mikoplazmaların hücresel ve moleküler düzeyde enfeksiyon stratejileri hala izah edilememiştir. Geçtiğimiz yıllarda çok sayıdaki araştırma göstermiştir ki; patojenik mikoplazmalar sofistike genetik ekipmanlarla donatılmışlardır. Bu sofistike sistemler bu mikroorganizmalara sürekli yüzey antijen maskelerini değiştirme yeteneğini kazandırmıştır. Bu değişken yüzey antijeninin, hücre duvarı olmayan etkene konakçının immun cevabından korunmayı sağladığı ve konakçıda kolonizasyonuna zemin hazırladığı bildirilmektedir (Jevhlinger ve ark., 2004).

Mikoplazmalar dünyanın her yerinde saprofit veya parazit olarak bulunurlar. Patojenik ve patojenik olmayanların her ikisi de ön solunum yolları mukozalarında, intestinal ve genital sistemde, eklem yüzeylerinde ve memede bulunmuşlardır. Patojenik türler, güneş ışınından korunmuş alanlarda günlerce canlı kalabilirler (Quinn ve ark., 1994).

Parazitik mikoplazmalar konakçı müköz membranlarına sıkıca bağlanma eğilimindedirler ve bazı türlerin spesifik bağlanma yapıları ile hücrelere tutundukları gösterilmiştir. Bunlar ekstrasellüler organizmalar olup hemolizin, proteaz, nükleaz ve diğer toksik faktörleri salgılayarak konakçı hücrenin ölmesine ya da kronik enfeksiyonuna neden olurlar. Bazı patojenik türler eklem ve seröz boşluklarda bulunan mezenşimal hücrelere affinite duyarlar. Solunum sistemi ve akciğerler yaygın enfeksiyon alanlarıdır. Mikoplazmalar solunum sistemi siliyumlarını tahrip etme yeteneğine sahip olup hayvanları sekonder enfeksiyonlara karşı predispoze kılarlar. Latent dönemleri vardır ve çeşitli stres faktörleri mikoplazmal enfeksiyonlara karşı predispozisyon oluştururlar. Enfeksiyon çoğunlukla kronik veya hafif seyreder. Enfeksiyon ya endojen ya da eksojen karakterlidir (Quinn ve ark., 1994). Enfekte hayvanlarda ateşle birlikte bakteriyemi gelişir. Enfeksiyöz ajanlar kan yolu ile yangısal değişimlerin meydana

geldiği hedef organlara (meme, göz, lenf nodülleri, eklem ve tendonlar) taşınırlar (Madanat ve ark., 2001). Mikoplazmalar konakçı immun sistemini işgal ederek immun baskının oluşmasına da neden olurlar (Fleury ve ark., 2002).

2.2. Bulaşma

Sağlıklı bir sürüye mikoplazmanın bulaşması hemen her zaman bu sürüye dışarıdan enfekte bir hayvanın (portör) katılması sonucu ya da enfekte başka bir sürü ile temas sonucu gelişir. Bu portör hayvan herhangi bir klinik belirti göstermeyebilir, getirildiği sürüde de herhangi bir klinik belirti olmayabilir. Ancak enfekte hayvanlar tedavi edilseler bile 7 yıla kadar etkeni ifraz ettikleri bildirilmektedir. Bu hayvanlar transport gibi strese maruz kaldıklarında enfeksiyon yeniden provake edilebilir. Ayrıca, kulak enfeksiyonu oluşturan mikoplazmaların da var olduğu ortaya konmuştur (Gil ve ark., 1999; Glew ve ark., 2000; Nicholas, 2002; Corrales ve ark., 2007). Bu enfeksiyonların kulak parazitleri tarafından bir hayvandan diğerine nakledildiği bazı araştırmacılar tarafından iddia edilmektedir (Damassa ve Brooks, 1991; De la Fe ve ark., 2005; De Azevedo ve ark., 2006). Kuzu veya oğlakların annelerinden ayrılmasının strese neden olduğu ve bu yüzden mikoplazma enfeksiyonlarına daha yatkın oldukları bildirilmektedir (Al-Momani ve ark., 2008). Ayrıca mikoplazma enfeksiyonları enfekte hayvanlarla ortak mera veya su kullanımı sonucunda, insanlar tarafından özellikle süt toplama araç ve personeli tarafından da bulaştırılabilir. Enfeksiyon etkeni bir sürüye girdikten sonra hayvanlar arasında bulaşma çeşitli yollarla olabilir. Bunlar; ağız, solunum, meme, göz, genital, intradermal ve subkutan yollarıdır. Bunlardan ağız, solunum ve meme yolu en önemli olanlarıdır (Nicholas, 2002; Corrales ve ark., 2007; Al Momani ve ark., 2008). Bunun aksine deneysel olarak yapılan bir çalışmada, subkutan inokülasyon sonucu meydana gelen klinik bulguların diğer yollara (intravenöz, intramammal ve oral) kıyasla daha belirgin olduğu ve etken ifrazının daha fazla olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmada ayrıca gebe hayvanların gebe olmayanlara nazaran daha fazla etkilendiği iddia edilmektedir (Hasso ve ark., 1993).

Bulaşmada, cinsel temas, vertikal veya aerosol yolun da etkili olduğu bildirilmektedir. Bazı kanatlı mikoplazmaları yumurta ile de bulaşabilir. Mikoplazmalar

genellikle tür spesifiktirler (Quinn ve ark., 1994; Al Momani ve ark., 2008). Hastalık enfekte hayvanlarla kontak ile hızlı bir şekilde bulaşır (Kızıl ve Özdemir, 2006). Hastalığa 4 yaşın üzerindeki hayvanlarda pek rastlanmaz. Bu durum, bu yaşa kadar hayvanların yeterli aktif bağışıklığa sahip olmaları ile izah edilmektedir. Sağmal-gebe ve sağmal-gebe olmayan hayvanlarda hastalığın sağmal olmayanlara göre daha fazla meydana geldiği, bunun nedeninin ise süt üretiminin kendi başına bir stres faktörü olduğu, bu nedenle strese daha fazla maruz kalan hayvanların enfeksiyona daha yatkın olduğu bildirilmektedir (Aytuğ ve ark., 1990; Pirali Kheirabadi ve Ebrahimi, 2007).

2.3. Klinik Bulgular

Erkek ve dişi koyun ve keçiler enfeksiyona yakalanabilir. Hastalığın inkübasyon süresi bir hafta ile 2 ay arasında değişkenlik arz eder. Hastalığın süresi enfeksiyöz ajanın virulansı ve konakçının direnci ile orantılıdır. Klinik olarak hastalık akut, subakut ve kronik seyreder. Hastalık sporadik olarak atipik veya asemptomatik olarak da seyredebilir (Madanat ve ark., 2001; Anonim, 2004b). Anoreksi, halsizlik ve sürünün gerisinde kalma hastalığın ilk klinik belirtileridir. Başlangıçta hafif bir ateş, iştahsızlık ve süt üretiminde azalma meydana gelir. Bu dönemde mikoplazmalar memede, eklemde ve konjunktiva mukozalarında kolonize olurlar. Gebeler abort yapabilir. *M. agalactia* vulva, vajina ve akciğerlerden de izole edilmiştir. Bu bölgedeki etken granuler vulvovajinit oluşmasına neden olurken pnömoni nadir olarak gözlenir (Madanat ve ark., 2001; Anonim, 2004b; Anonim, 2005; Anonim, 2006; Nicholas ve ark., 2008). Akut vakalarda ateş yaygın olup bazı vakalarda sinirsel semptomlar görülebilir (Nicholas ve ark., 2008).

Meme formunda; memede kataral veya parankimatöz nitelikte yangı şekillenir. Meme dokusunda yumuşama, hacimce küçülme ve nodüller meydana gelir. Süt veriminde azalma görülür. Memeler ağırlı olduğundan sağım güçleşir. Süt; boz-kirli sarı renkte, peynirimsi görünüşte, yapışkan kıvamda ve pıhtılıdır. Bekletildiğinde hızla çöker, üstte bulanık manzarada serum ortaya çıkar. Birkaç gün içerisinde süt tamamen kesilir. Bazen süt sulu kıvamda olur, bekletildiğinde; üstte berrak, gri mavimtrak renkte sıvı kısmı, alttada sarı yeşilimtrak renkte pıhtı tabakası ayırt edilir. Bu pıhtılar bazen meme kanalını bile tııkayabilir. Gangrenöz mastitiste süt kanlı olabilir. Bu durumda süt verimi

daha uzun sürede kesilir. Memedeki yangı klinik olarak düzelse de o laktasyon döneminde yeniden süt verir duruma gelmez. Süt verimi kayıplarının yanı sıra laktasyonun ilk aylarında hastalık çıktığında, kuzu ve oğlakların beslenmesinde önemli sorunlar ortaya çıkabilir (Aytuğ ve ark., 1990; Corrales ve ark., 2007). Meme enfeksiyonu; etkenin meme kanalına girmesini müteakip 1-3 günde başlar (Kinde ve ark., 1994). Mastitis genellikle bilateral olarak seyreder, meme dokusunun ısısı artar, şişkinlik ve ağrı ile birlikte meme lenf yumrularında hipertrofi gözlenir. En sonunda sertleşmiş nodüllerle birlikte meme atrofiye olur (Corrales ve ark., 2007).

Eklem formunda hayvan topallar. Ön ve arka ekstremitelerde birkaç eklemden şişlik, ağrı ve sıcaklık hissedilir. Tendovajinaların da yangılı olduğu saptanabilir. Bazı hastalar merada dolaşamadıkları için beslenemez ve kaşektik hale gelirler (Aytuğ ve ark., 1990). Semptomlar daha çok karpal ve tarsal eklemlerde meydana gelir. Bunun sonucunda eklemlerde ankiloz veya topallık gibi semptomlar meydana gelerek hayvanlar yürüyemez veya ayağa kalkamazlar. Sinoviyal sıvının artışı ile eklemlerde ısı artışı ve şişkinlik kendini gösterir, (Corrales ve ark., 2007).

Oküler lokalizasyonda, keratokonjunktivitisin ilk bulgusu konjunktivadaki konjesyondur. Daha sonra korneal lezyonların vaskülarizasyonu gerçekleşir. Bu durum keratokonjunktivitis, keratit ve korneanın vaskülarizasyonuna bağlı olarak oluşan görme kaybı ile sonuçlanır. Bazı hayvanlar korneada ülserasyon oluşsa bile kısa bir süre sonra tedrici olarak iyileşebilirler (Madanat ve ark., 2001). Keratokonjunktivitis, kontagiyöz agalaksialı hayvanların yaklaşık %50'sinde gelişir. Arasına kronik enfeksiyona dönüşür, bazen de tek veya çift taraflı körlüğe neden olabilir (Madanat ve ark., 2001; Anonim, 2004b; Anonim, 2005; Anonim, 2006; Corrales ve ark., 2007).

2.4. Otopsi Bulguları

Dişi hayvanlarda en önemli bulgu kataral mastitistir. İnterstisyel dokularda primer yangıyı takiben asiner dokularda yangı gelişir. Eğer mastitis kronikleşirse progressif fibrozis ve sonuçta parankimatöz atrofi gözlenir. Dişi ve erkek hayvanlarda septisemi sonucunda kaslarda, dalak ve karaciğerde konjesyon gözlenir. Hem akut hemde

kronik vakalarda periartiküler ödemle birlikte artrit yaygındır. Özellikle karpal eklemler etkilenir. Synoviyal membranlar hiperemik olabilir ve eklem boşlukları hemorajik bir sıvı ile doludur. Gözdeki erken lezyonlar başlangıçta seröz daha sonra mukopurulent konjunktivitis, bunu takiben de keratitis ve korneal ülserasyonlar şeklinde gözlenebilir (Anonim, 2004b; Anonim, 2005; Anonim, 2006). Ayrıca, Loria ve ark.(2007) kontagiyöz agalaksialı bir koyunun beyinde etken izole ederek non-purulent bir ensefalitisten söz etmektedir.

2.5. Ekonomik Önemi

Hastalığın ekonomik önemi sürünün büyüklüğü ile orantılıdır (Pepin ve ark., 2003) ve önemli kayıplara neden olurlar. Akdeniz bölgesindeki Avrupa ülkelerinin yıllık kaybının 90 milyon dolar olduğu bildirilmektedir (Lambert ve ark., 1998; Kinde ve ark., 1994; Al-Momani ve ark., 2008). Hastalık, süt ve süt ürünleri üretiminde azalmaya neden olur. Enfekte gebelerin yavru atmaları sonucu yavru kayıpları, prematüre doğumlar ve enfekte memelerden süt emen yavruların hastalığa yakalanmaları önemli kayıpların meydana gelmesine yol açar. Hastalıktan korunmak için aşı masrafları, hasta hayvanları tedavi giderleri ve veteriner hizmetleri de ekonomik kayıplar arasında sıralanabilir (Madanat ve ark., 2001; Gil ve ark., 2003; Fusco ve ark., 2007). Hasta hayvanların değerinden düşük fiyatlarla kesime sevk edilmeleri de ekonomik kayıplara neden olur (Gil ve ark., 2003). Ancak mikoplazma enfeksiyonlarında en önemli kayıp hastalığın mortalitesinden ziyade, yüksek morbidite, süt ve et üretimindeki önemli kayıplardır (Kızıl ve Özdemir, 2006). Ancak daha önce bu hastalıkla hiç karşılaşılmayan sürülerde mortalitenin %80'e morbiditenin ise %100'e kadar çıkabileceği de bildirilmiştir (Nicholas, 2002). Ayrıca enfeksiyonun hem dişilerin gebe kalma oranında hem de erkeklerin fertilitesinde azalmaya neden olması hasebiyle de önemli ekonomik kayıplar meydana gelmesine sebebiyet verir (Gil ve ark., 2003).

2.6. M. agalactiae'nin Teşhisi

Hastalığın teşhisi etkenin süt örneklerinde izolasyonu ve ELISA tekniği ile serolojik teşhisi esasına dayanır (Lambert ve ark., 1998). Serolojik testlerden

komplement fikzasyon ve indirekt hemaglutinasyon tekniği de kullanılmaktadır (Pirali Kheirabadi ve Ebrahimi, 2007). Ancak bazı araştırcılar subklinik mikoplazma enfeksiyonlarının teşhisinde ELISA'nın daha başarılı olduğunu bildirmektedirler (Pepin ve ark., 2003). Son zamanlarda sütte *M. agalactiae*'nin izolasyonunda PCR tekniği de kullanılmaktadır (Pirali Kheirabadi ve Ebrahimi, 2007). Bunların dışında growth inhibisyon testi ve immunobloting testlerinden de yararlanılmaktadır. Bunlardan Western blot tekniğinin çok duyarlı olduğu ve altın standart olarak değerlendirilmektedir. Ancak pahalı ve antikor düzeyini kantitatif olarak göstermemesi gibi sakıncaları vardır. Bu yüzden mevcut serolojik testler içinde ELISA tekniği en çok tercih edilenidir. ELISA testi yüksek duyarlılığa, spesifiteye sahip olmakla birlikte basit olması ve çok sayıda numuneyi bir anda ve kısa sürede değerlendirmeye tabi tutması gibi üstün özellikleri vardır (Fusco ve ark., 2007). İyi bir ELISA çok iyi immunojenik antijene sahip olmalı ve enfeksiyonun her aşamasında ve arazi izolatlarının tümünü kapsayıp teşhis edebilmelidir (Fusco ve ark., 2007).

Yüksek spesifiklik elde etmek, bütün serolojik testler için önemli bir amaçtır. Ortak ya da benzer epitop içeren antijenlere sahip patojenlerde kros-reaksiyonlar önemli problemlerdir. Yanlış pozitif sonuçlar daha önce yapılan homolog antijenle aşlamalar sonucu veya kontamine antijen varlığında ortaya çıkabilir. Paraziter hastalıklar ve besinsel faktörler de yanlış pozitifliğe sebebiyet verebilir. Bu yüzden bu ihtimaller de göz önünde bulundurulmalıdır (Lambert ve ark., 1998). İnaktif antijenlerin yerine rekombinant peptitlerin kullanılmasının pozitif ve negatif hayvanların ayırımı önemli derecede arttırdığı bildirilmektedir. (Fusco ve ark., 2007). Etken izolasyonu için en uygun teşhis materyalleri; süt, eklem sıvıları ve gözyaşı sıvılarıdır (Kızıl ve Özdemir, 2006).

2.7. *M. agalactiae*'nin Tedavisi

Hastalığın tedavisinde kullanılan ilk ilaç arsenik bileşikleridir (Madanat ve ark., 2001). Günümüzde hastalığın tedavisi antibiyotiklerin kullanımı esasına dayanır. Bu antibiyotikler tylosin, tetrasiklinler, eritromisin, makrolidler, florfenikol, tiamulin ve florokinolonlardır (Akgül ve ark., 1995; Madanat ve ark., 2001; Anonim, 2004b;

Anonim, 2005; Anonim, 2006). Araştırcıların önemli bir kısmı antibiyotiklerin sistemik kullanılmasından yanadır. Ancak bazı özel durumlarda (örn. kronik mastitis) meme içi uygulamalar önerilmektedir (Madanat ve ark., 2001). Öte yandan birçok araştırıcı antibakteriyel tedavinin hiçbir sonuç vermeyeceği kanısındadırlar. Eğer terapotik doz tam olarak belirlenmezse, uygun antibiyotik yeterli sürede uygulanmazsa uygulanan ilaçlardan beklenen etkinin çok zayıf veya hiç olmayacağı bildirilmektedir. Bu durumda etkenin çevreye salınmaya devam edeceği ve muhtemelen direnç gelişebileceği ifade edilmektedir (Madanat ve ark., 2001). Kronik artrit ve keratokonjunktivitis gelişen hayvanlarda iyileşme olması ihtimalinin oldukça zayıf olduğu bildirilmektedir (Anonim, 2004b; Anonim, 2006).

2.8. M. agalactiae Enfeksiyonundan Korunma

Lokal veteriner hekimlerin enfeksiyon çıkan sürüleri gerekli mercilere bildirmeleri, şüpheli olgularda laboratuvar desteğinin sağlanarak etken izolasyonunun yapılması, yılda bir veya iki kez ELISA tekniği ile sürülerde serolojik çalışmalar yapılarak seropozitif olan hayvanların tespit edilmesi, enfekte sürülerin damızlıktan çıkarılarak kesime sevk edilmeleri ve düzenli olarak süt tanklarının bakteriolojik analizlerinin yapılmasının hastalığın prevalansında önemli derecede azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (Pepin ve ark., 2003). Hastalıktan korunmak için aşılama çalışmalarına ara vermeden devam edilmelidir (Fusco ve ark., 2007). Ayrıca genel tedbirler; hastaların sağlıklılarından ayrılması, enfekte ahırların dezenfeksiyonu, kontamine hayvan materyallerinin (sağım materyali gibi) sterilizasyonu gibi tedbirlerin de alınması hastalığın bulaşması ya da yayılmasının engellenmesi için önemlidir.

Vertikal bulaşmanın minimuma indirilmesi için pastörize kolostrum kullanılması, ortak ayır meraların enfekte hayvanlara kapatılması, horizontal bulaşmayı engellemek için ise süt sağım hijyeninin maksimuma çıkarılması önerilmektedir. Bugüne kadar meme içi kullanılan ilaçların mikoplasma enfeksiyonunu tamamen önlediğine ilişkin bir veriye ulaşılmamıştır. Meme içi uygulamayla birlikte sistemik tedavilerin de yapılması gerekmektedir. Aşılamanın 21 gün arayla iki kez yapılması, ikinci aşılamanın doğumdan

15 gün öncesinde yaplm olması hastalgn kontrolünde önemli kriterlerdir (Anonim, 2003).

Bu çalışmayla; özellikle koyun-keçi yetitiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı Ağrı-Diyadin bölgedeki koyunlarda zaman zaman kontagiyöz agalaksiya benzeri klinik belirti gösteren koyunlarla karılaılması nedeniyle bu bölgede *M. agalactiae*'nin seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan materyali

Bu çalışmanın materyalini Ağrı-Diyadin bölgesinde 8 köy ve 61 sürüden temin edilen toplam 482 morkaraman koyun oluşturdu. Kan alma işlemi kuzulama döneminde (Şubat-Nisan, 2008) yapıldı.

3.1.2. Çalışmada kullanılan cihazlar

1-ELİSA okuyucusu (ELISA reader – DAS[®])

2-Santrifüj Cihazı (Rotafix 32[®] – Hettich)

3-Derin dondurucu (Uğur[®])

4-Buzdolabı (Arçelik[®], Nofrost)

5- Otomatik Pipet (Ependorf[®] Marka)

6- Multikanal otomatik pipet (Ependorf[®] Marka)

3.2. Yöntem

3.2.1. Klinik muayene

Çalışmada kullanılan koyunlar genel klinik muayeneye tabi tutulduktan sonra her hayvana ait bir klinik değerlendirme protokolü anamnez bilgilerinden yararlanılarak hazırlandı ve değerlendirildi. Bu değerlendirmede hayvanların menşei, daha önce

agalaksiya ile ilgili semptomların gözlenip gözlenmediği, hayvanın eşgali, gebelik, süt verimleri ve yavruya ilişkin bilgiler irdelendi. Bu çalışmada kullanılan koyunların yaşları (3 yaşlı 73 adet, 4 yaşlı 128 adet, 5 yaşlı 114 adet, 6 yaşlı 101 adet, 7 yaşlı 53 adet ve 8 yaşlı 12 adet) da kaydedildi.

3.2.2. Kan örneklerinin alınması

Protokol bilgileri kaydedilen hayvanlardan usulüne uygun olarak jugular vena'dan 10 ml'lik antikoagülsüz tüplere her hayvandan kan alındı. Oda sıcaklığında pıhtılaşmaları beklendikten sonra santrifüj edildi (3000 devir, 10 dk), elde edilen serum örnekleri serolojik analizleri yapıncaya kadar serum saklama tüplerinde derin dondurucuda (-20 °C) muhafaza edildi. Bu numunelerin *M. agalactiae* yönünden seroprevalansları araştırıldı.

3.2.3. Serolojik analizin yapılması

Derin dondurucuda muhafaza edilen serum örnekleri oda ısısında çözdürüldükten sonra, kit protokolünde (Pourquier, Fransa) belirtildiği şekilde ELISA prosedürü uygulandı. Sonuçların değerlendirilmesi de bu protokole göre yapıldı. Buna göre elde edilen OD değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

(Numune OD – Negatif Kontrol OD)

% S/P = 100x _____

(Pozitif Kontrol OD - Negatif Kontrol OD)

%S/P: Örneklerin pozitif kontrole oranı

•S/P değeri; %50'ye eşit veya küçük ise mikoplazma negatif olarak değerlendirildi.

•S/P değeri; % 50- % 60 arasında ise mikoplazma yönünden şüpheli olarak değerlendirildi.

•S/P değeri; % 60'a eşit veya üzerinde ise mikoplazma pozitif olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Klinik değerlendirme protokolüne kaydedilen veriler değerlendirildi. Yapılan klinik muayenede koyunların 29'unda yavru atma, 7'sinde konjuktivitis, 2'sinde mastitis, 1'inde topallık olduğu saptandı. Elde edilen klinik verilerle, serolojik bulguların değerlendirilmesi yapılarak klinik bulgularla sonuçlar karşılaştırıldı.

4.2. Serolojik Bulgular

Elde edilen serolojik bulgular kit prosedüründe belirtilen kriterler göz önünde bulundurularak değerlendirildi. Bu değerlendirmeye göre 482 adet koyun örneğinden sadece 1'inde (127 nolu koyun) seropozitivite (% S/P: 68.084) belirlendi. Bu koyun 6 yaşında olup, kan alma döneminde mastitis olduğu belirlendi. Bazı hayvanlardan (125, 128, 129, 228, 277 nolu koyunlar) elde edilen OD değerleri negatif kontrol OD değerlerinden oldukça yüksek olmasına rağmen yapılan % S/P değerlendirmesine göre negatif oldukları belirlendi. Pozitif olmasa da negatif kontrolden yüksek olan bu hayvanların klinik değerlendirilmesinde herhangi bir klinik bulguya da rastlanmadı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

M. agalactiae'ya bağlı olarak oluşan kontagiyöz agalaksiyada en önemli klinik belirtiler; mastitis, artrit, keratokonjunktivitis, nadiren de pnömoni ve abortus olduğu bir çok araştırıcı tarafından bildirilmektedir (Aytuğ ve ark., 1990; Madanat ve ark., 2001; Zendulkova ve ark., 2004; Corrales ve ark., 2007; Al Momani ve ark., 2008; Nicholas ve ark., 2008).

M. agalactiae'nın seroprevalansının gebe ve sağmal koyunlarda daha yüksek olduğu, yaş ilerledikçe prevalansın arttığına ilişkin bilimsel çalışmalar mevcuttur (Nicholas, 2002; Corrales ve ark., 2007; Pirali Kheirabadi ve Ebrahimi, 2007; Al Momani ve ark., 2008; Verbisck-Bucker ve ark., 2008). Bu nedenle mevcut çalışmada sağlıklı sonuçlar elde edebilmek için 8 köy ve 61 sürüden temin edilen toplam 482 morkaraman koyundan kan örnekleri alındı. Çalışmada farklı yaş grupları da göz önünde bulundurularak örnekleme yapıldı. Bu meyanda 73 baş 3 yaşında, 128 baş 4 yaşında, 115 baş 5 yaşında, 101 baş 6 yaşında, 53 baş 7 yaşında ve 12 baş 8 yaşında koyundan kan örnekleri alınarak serolojik analize tabi tutuldu. Örnekleme işlemi kuzulama döneminde yapıldığından (şubat-Nisan, 2008) hayvanların bir kısmı sağmal dönemde bir kısmı ise gebeliğin son döneminde idiler. Elde edilen anamnez verilerine göre bu hayvanların 29'unda yavru atma, 7'sinde konjunktivitis, 2'sinde mastitis ve 1'inde ise topallık olduğu rapor edildi.

Yapılan serolojik çalışma sonucunda 482 örnekten sadece 1 (% 0.207) hayvanın kanında seropozitivite saptandı. Protokol incelemesinde bu hayvanın (127 nolu koyun) 6 yaşında mastitisli bir koyun olduğu belirlendi. Mevcut çalışmada serolojik analizler için ticari ELİSA (Pourquier, Fransa) kit'i kullanıldı. Bu kitin çalışma prosedürü *M. agalactiae* için önemli membran proteini olan p48 lipoproteinine karşı oluşan antikorların varlığı tespitine dayanmaktadır. Pepin ve arkadaşlarının (2003) yaptıkları bir çalışmada *M. agalactiae*'nin seroprevalansının belirlenmesinde kullanılan ELISA kitleri karşılaştırılmış ve sonuçta mevcut çalışmada kullanılan ELISA kitinin (Pourquier, Fransa) diğer kitlere kıyasla en iyi spesifiteye ve duyarlılığa sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Yüksek spesifiklik elde etmek, bütün serolojik testler için önemli bir

amaçtır (Lambert ve ark., 1998). Mevcut serolojik testler içinde ELISA tekniği en çok tercih edilenidir. ELISA testi yüksek duyarlılığa, spesifiteye sahip olmakla birlikte basit olması ve çok sayıda numuneyi bir anda ve kısa sürede değerlendirmeye tabi tutması gibi üstün özellikleri vardır (Fusco ve ark., 2007). Bazı araştırmacılar subklinik mikoplazma enfeksiyonlarının teşhisinde de ELISA'nın daha başarılı olduğunu bildirmektedirler (Pepin ve ark., 2003).

Nicholas (2002) yaptığı bir çalışmada hastalığın daha çok ilkbahar döneminde ve hayvanların süt vermeye başladıkları dönemde ortaya çıktığını bildirmektedir. Bu dönemde hayvanların çeşitli strese maruz kalmalarının, hastalığın ortaya çıkmasını provake ettiği Corrales ve arkadaşları (2007) tarafından bildirilmektedir. Süt üretimi de başlı başına bir stres faktörü olarak kabul edilmektedir (Pirali Kheirabadi ve Ebrahimi, 2007). Bu durumun da süt veren hayvanlarda hastalığın insidansının neden daha yüksek olduğunu açıklamaktadır. Ayrıca yavruların annelerinden erken ayrılmasının hayvanlarda strese neden olduğu ve bununla agalaksiyanın daha fazla görülmesine yol açtığı bildirilmektedir (Al Momani ve ark., 2008). Kuzularda enfeksiyonun fazla görülmesinin temel nedeni olarak kuzuların mikoplazma ile enfekte memelerden süt emmeleri sonucu şekillendiği bildirilmektedir (Verbisek-Bucker ve ark., 2008). Dişilerin erkeklere göre daha fazla duyarlı olduğu da bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmektedir (DaMassa ve ark., 1992). Hastalığın seroprevalansını etkileyen diğer faktörler ise;

- a) Enfekte hayvanların sürüye katılması; özellikle koç katım döneminde başka sürülerden koçların sürüye katılması (Kinde ve ark., 1994; De la Fe ve ark., 2005; Corrales ve ark., 2007; Al Momani ve ark., 2008),
- b) Hijyenin yetersiz olması; meme hijyeni, süt sağım cihazlarının temizliği, süt sağan ellerin hijyeni, barınak altlıklarının kontamine olması, barınakların dezenfeksiyonunun iyi yapılmaması, yetersiz su nedeniyle hijyene riayet edilmemesi (Bergonier ve Poumarat, 1997; Madanat ve ark., 2001; Al Momani ve ark., 2008),

- c) Meraların kullanımı; farklı sürülerin aynı otlakları kullanması, enfekte sürülerle meranın kontamine olması, bu sürülerle direkt temas (Bergonier ve Poumarat, 1996; Nicholas, 2002),
- d) Hayvan yoğunluğunun fazla olması; gerek ahır şartlarında gerekse mera kullanımında hayvan başına düşen alanın dar olması (Verbisck-Bucker ve ark., 2008),
- e) Hayvanların yeni bir sürüye, ahıra, meraya ya da üretim ortamına katılması (Corrales ve ark., 2007),
- f) Hastalığı önceden geçiren sürülerde nüks etmesi (Corrales ve ark., 2007) olarak bildirilmektedir. Bunlardan en önemli faktörün enfekte koç katımı konusunda birçok araştırmacı hemfikirdir.
- g) Bağışıklık süresinin kısa olması (Tola ve ark., 1999),

Mevcut çalışmada kullanılan hayvanlar geleneksel hayvancılığın yapıldığı bir bölgeden temin edilmiştir. Bu nedenle bilinen manada hijyenin iyi olduğu söylenemez. Hatta bölgede karşılaşılan birçok hastalığın etiyolojisinde hijyenin önemli rolü olduğu kanısını taşımaktayız. Ancak hayvan popülasyonu ve mera yoğunluğu düşünüldüğünde, bölgenin mevcut hayvanları barındıracak yeterlilikte meraya sahip olduğu düşünülmektedir. Diğer bir konu ise hayvan giriş ve çıkışlarıdır. Mevcut çalışmada kullanılan hayvanların bulunduğu bölgede hayvan girişi yok denecek kadar azdır. Yetiştiriciler genellikle damızlık erkek ve dişilerini kendi sürülerinden elde ederler. Daha çok bölgeden diğer bölgelere hayvan çıkışı sözkonusudur. O nedenle yeni üretim ortamına hayvanların katılımı yok denecek kadar azdır. Özellikle kontagiyöz agalaksiyanın insidansının artmasında en etkili faktör olan farklı sürülerden koç katımının da gerçekleşmediği anamnez bilgilerinde ortaya konmuştur. Bütün bu bilgilerin ışığında hijyenik faktörler göz ardı edildiğinde, mikoplazma enfeksiyonunun ya da seroprevalansının bu bölgede düşük çıkmasının muhtemel gerekçeleri arasında sayılabilir.

Bu bölgede hastalığın seroprevalansının düşük olmasının bir başka nedeni bölgede hastalığa neden olan *M. agalactiae* dışında, diğer etkenlerin de olma olasılığıdır. Mevcut çalışmada yapılan ELISA ile sadece *M. agalactiae*'ya karşı antikor varlığı araştırılmıştır. Ancak hastalığın etiolojisinde asıl ajanın *M. agalactiae* olmasına rağmen *M. capricolum subsp. capricolum (Mcc)*, *M. mycoides subsp. mycoides LC (MmmLC)* ve *M. putrefaciens*'de benzer klinik semptomlar oluşturabilir ve bu etkenlerle meydana gelen enfeksiyonlarda klinik bulgular kontagiyöz agalaksiyanın bulguları ile benzerlik göstermektedir (Da Massa ve ark., 1987; Madanat ve ark., 2001; Corrales ve ark., 2007). Bunun ortaya konulabilmesi için diğer etkenlerin de olup olmadığını ortaya koyacak mikrobiyolojik ve serolojik çalışmaların bölgede yapılmasına ihtiyaç vardır.

Nitekim Assunção ve arkadaşları (2004) enzootik olarak kontagiyöz agalaksiyanın görüldüğü Kanarya adalarında seroprevalansın *M. agalactiae* için %55 ve *MmmLC* için ise % 67 olduğunu bildirmektedirler. Al- Momani ve arkadaşları (2008) ise mikoplazmaların teşhis oranını arttırmak için hasta ve yaşlı hayvanlar seçtiklerinden seroprevalansı %30 olarak bulmuşlardır. Ancak bunun gerçek seroprevalans olmadığını sadece risk faktörlerini ortaya koymak için böyle bir çalışma dizaynı yapıldığını bildirmektedirler. Bunun dışında özellikle İspanya'da çeşitli araştırmacıların yaptıkları seroprevalans çalışmalarında Andrada ve arkadaşları seroprevalansın (2000) %66, De la Fe ve arkadaşları (2005) ise % 40 oranında hastalığın endemik olarak görüldüğü bölgelerde saptamışlardır. Buna karşın Kanarya adalarında Deniz (1996) yaptığı bir çalışmada keçilerde seroprevalansların *M. agalactiae* için %8.8, *MmmLC* için ise %2.35 olduğunu bildirmektedir. Zendulkova ve arkadaşları (2004) yaptıkları bir çalışmada *M. agalactiae*'nin klinik semptomlarını gösteren 35 hayvanın 11'inde pozitif 10'unda şüpheli ve diğerlerinin negatif oldukları antijen tespit eden ELISA yöntemi ile ortaya koymuşlardır. Pozitiflik oranının yüksek olmasının nedeni kontagiyöz agalaksiyanın klinik belirtilerini gösteren hayvanları seçmelerinden kaynaklanmaktadır. Ancak, mevcut çalışmada kan örnekleri rastgele alındığından prevalansın daha düşük çıkmasına neden olduğu kanısını taşımaktayız. Serolojik çalışmalarda bir bölgede gerçek seroprevalansın belirlenmesinde yapılması gereken de hayvan seçiminin rastgele olmasıdır.

Seroprevalansın bu çalışmanın yapıldığı bölgede düşük çıkmasına rağmen kontagiyöz agalaksiyanın klinik belirtilerine rastlanılmasının çeşitli nedenleri olabilir. Bu nedenler;

a) Bölgede kontagiyöz agalaksiyada gözlenen klinik belirtilere benzer diğer hastalıkların olma olasılığı. Bu hastalıklar; Visna Maedi, Clamidia, Listeriozis, mastitise neden olan adi mikroorganizmalar, artritise neden olan diğer bazı hastalıklar, solunum sisteminde enfeksiyona neden olan diğer bakteriel hastalıklarda da benzer semptomlar gözlenebilir (Aytuğ ve ark, 1990; Kinde ve ark., 1994; Fleury ve ark., 2002).

b) Bu hastalıkta bağışıklık süresinin çok kısa olması da hastalığı seroprevalansının düşük çıkmasında etkili olabilir. Nitekim bu çalışmada bazı kan örneklerinin OD değerleri negatif kontrollerden çok yüksek çıkmasına rağmen yapılan %S/P (örneklerin OD değerinin pozitif kontrole oranı) değerlerinin % 50'nin altında çıkması nedeni ile test prosedürü gereği negatif olarak değerlendirildi.

c) Diğer mikoplazma etkenlerinin rol oynama ihtimali.

Sonuç olarak bütün bu bulguların ışında çalışmanın yapıldığı Ağrı-Diyadin bölgesinde *M. agalactiae*'nin seroprevalansının çok düşük (% 0.207) olduğu ortaya konulmuştur. Ancak bölgede zaman zaman serolojik çalışmaların tekrar edilmesi, diğer agalaksiya etkenleri yönünden de hem serolojik hemde antijen tespitine ilişkin yeni çalışmaların yapılmasında büyük yarar vardır. Bölgede hastalığın prevalansının düşük olmasında en büyük faktörün başka sürülerden koçların katılmaması kanısı en güçlü etiyolojik faktör olarak bu çalışmada değerlendirilmektedir. Bu nedenle bölgedeki hayvan üreticilerinin bu konuda daha da bilinçlenmesinin hastalığın bölgede yayılmasının önünde en büyük engel olduğu kanaatini güçlendirmektedir. Bölgemizde ve ülkemizde konu ile ilgili yeterli literatüre bütün uğraşlara rağmen ulaşılamamış olması da bu çalışmanın gelecekteki çalışmalar için önemli bir referans olacağı kanısını doğurmaktadır.

ÖZET Yaşar R, Ağrı-Diyadin bölgesinde *Mycoplasma agalactiae*'nin koyunlarda seroprevalansının araştırılması. Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Van, 2008. Bu çalışma ile önemli koyun popülasyonu olan Ağrı-Diyadin bölgesi koyunlarında *M. agalactiae*'nin seroprevalansı ortaya konulmaya çalışılmıştır. Çalışmada toplam 482 adet farklı yaşlarda morkaraman koyundan kan örnekleri alınarak ELISA testi ile *M. agalactiae* yönünden seroprevalansları araştırılmıştır. Çalışma sonucunda sadece 1 (%0.207) hayvanda seropozitivite tespit edildi. Bu çalışmada sero-pozitivitenin düşük olmasının nedenleri irdelenmiş, literatür bilgileri ile karşılaştırmalar yapılarak hastalığın seroprevalansının diğer ülkelerde yüksek çıkmasının sebepleri de tartışılmıştır. Mevcut çalışmanın yapıldığı bu bölgede seroprevalansın düşük çıkmasının en önemli nedeninin bölgede hayvan yetiştiriciliği yapanların damızlıklarını dışarıdan değil de hemen her zaman kendi sürüleri içerisinde seçmelerinden kaynaklandığı kanısına varılmıştır. Sonuç olarak, bu konuda bölge üreticilerinin daha da aydınlatılmasının yararlı olacağı, bölgede hem serolojik hem de mikrobiyolojik çalışmaların tekrar yapılmasının yararlı olacağı kanısına varıldı. Ayrıca bu çalışmanın bölgede ilk kez yapılmasından dolayı gelecekte yapılacak çalışmalara kaynak teşkil edeceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Koyun, *M. Agalactiae*, Seroprevalans.

SUMMARYYaşar R, Investigation on the Seroprevalance of *Mycoplasma agalactiae* in Sheep in the Region of Ağrı-Diyadin. University of Yüzüncü Yıl. Institute of Health Science Department of Internal Diseases Master Thesis, Van, 2008. With this study, seroprevalance of *M. agalactiae* were aimed to determine in the region of Ağrı-Diyadin which important sheep population is present. In this study, a total of 482 Morkaraman sheep blood samples at different ages were obtained. These blood samples were analysed with regard to *M. agalactiae* seroprevalance using ELISA test. After this study, only 1 blood sample (%0.207) was determined to be positive. The reasons of the low seroprevalance observed in this study was discussed, comporisons were made with the literature and reasons of the high seroprevalance reported in the literature was also evaluated. The most important reason for the low seroprevalance observed in the present study is believed to be due to usage of their own animals for breeding and not allowing outsider rams to their flock. As a result; animal producers in this region should be informed better with regard to diseases and both serological and microbiological surveys should be repeated in this region. Futhermore, this study is the first in its kind in this region, therefore it will be a good literature source for future studies with concern to this subject.

Key words: Sheep, *M. Agalactiae*, seroprevalance.

KAYNAKLAR

Ak K, Ak S, Gürel A, Hasöksüz M, Barau A, Öztürkeler Y, İleri İK, Minbay A (1995), Experimental Studies on The Effect of *M. agalactiae* on The Spermetosoa and Genital Organs of Rams, *Pendik Vet Mikrobiyol Derg* 26, 139-155.

Akgül Y, Berktaş M, Ağaoğlu ZT, Şekeroğlu R, İçen H, Tanrıtanır P, Karaca M (1995), Agalaksili Keçilerde Klinik, Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler ile Hastalığın Sağaltımında Eritromisin'in Etkisi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağ Bil Derg*, 1:47-53.

Al-Momani W, Nicholas RAJ, Abo-Shehada MN (2008), Risk Factors Associated With *Mycoplasma Agalactiae* Infection of Small Ruminants in Northern Jordan, *Preven Vet Med* 83, 1-10.

Anonim (2003), <http://www.exopol.com/in/circulares.in/9.in.html>.

Anonim (2004a), http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00070.htm.

Anonim (2004b), http://www.vet.uga.edu/vpp/gray_book/Hendheld/cas.htm .

Anonim (2005), http://www.cfsph.iastate.edu/factsheet/pdfs/contagious_agalactiae

Anonim (2006), http://www.vet.uga.edu/VPP/gray_book/FAD/cas.htm.

Assunção P, De la Fe C, Ramirez AS, Andrada M, Bueda JB (2004), Serological study of contagious agalactia in herds of goats in the Canary Islands. *Vet. Rec.* 154(22). 684-687.

Ayling R.D, Baker SE, Peek ML, Simon AJ, Nicholas RA. (2000), Comparison of in vitro activity of danofloxacin, florfenicol, oxytetracycline, spectinomycine and tilmicosin against recent field isolates of *Mycoplasma bovis*. *Vet. Rec.* 146 (26):745-747.

Aytuğ CN, Alaçam E, Özkoç Ü, Yalçın BC, Güçgen H, Türker H (1990), *Koyun-Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği*, Bölüm 3, Sayfa 171, Tüm Vet Yayıncılık Hizmetleri Yayını No: 2, İstanbul.

Bergonier D, Bertholet X, Paumarat F (1997), Contagious agalactiae of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control, *Rev Sci Tech off Int Epiz* 16, 848-873.

Corrales JC, Esnal A, De la Fe C, Sanches A, Assunção P, Poveda JB, Contreras A (2007), Contagious Agalactia in Small Ruminants, *Small Ruminants Research* 68, 154-166.

Da Massa AJ, Brooks DL (1991), The External Ear Canal of the Goats and Other Animals as a Mycoplasma Habitat. *Small Rumin. Res.* 4, 85-93.

Da Massa AJ, Brooks DL, Adler HE (1983), Caprine Mycoplasmosis: Widespread Infection in Goats With *Mycoplasma mycoides* subsp *mycoides* (large colony type). *Am J Vet Res*, 44, 322-413.

Da Massa AJ, Brooks DL, Holmberg CA, Moe AI. (1987), Caprine mycoplasmosis: an outbreak of mastitis and arthritis requiring the destruction of 700 goats. *Vet Rec* 120, 409-413.

Da Massa AJ, Wakenel PS, Brooks DL (1992), Mycoplasmas of goats and shep. *Journal of Veterinary Diagn. Invest* 4, 101-103.

De Azevedo EO, De Alcantara BDM, Elmiro RN, Tabosa MI, Barreto MI, Almeida JF, Araujo MD, Rodrigues ARO, Riet-Correa F, De Castro RS (2006), Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brasil: first report. *Braz. J, Microbiol* 37 (4) 1-9.

Dedieu L, Mady V, Lefevre PC (1995), Development of two PCRs for the identification of mycoplasmas causing contagious agalactia, *Fems. Microbiol Lett* 129, 243-250.

De la Fe C, Assunção P, Antunes T, Poveda JB (2005), Microbiological survey for mycoplasma spp. in a contagious agalactia endemic area. *Vet. J* 170, 257-259.

Deniz S (1996), Estudiode la agalxia contagiosa caprina en las islas Canarias, Doctoral Thesis, University of Las Palmas.

Fleury B, Bergonier D, Berthelot X, Peterhans E, Frey J, Viki EM (2002). Characterisation of P40, cytheadhesin of *M. agalactiae*, *Infection and Immunity.* 70(10). 5612-5621.

Fusco M, Corona L, Onni T, Marras E, Longheu C, Idini G, Tola S (2007), Development of a sensitive and spesific enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinanat antigens for rapid detection of antibodies against *M. agalactiae* in sheep, *Clinical and Vaccine Immunology*, 14(4). 420-425.

Gil MC, Pena FJ, Hermoso de Mendoza J, Gomez L (2003), Genital lesions in an autbreak of caprine contagious agalactiae caused by *M. agalactiae* and *Mycoplasma putrefaciens*, *J Vet Med B*, 50, 480-487.

Gil MC, Hermoso de Mendoza M, Rey J, Alonso JM, Poveda JB, Hermoso de Mendoza J (1999), Isolation of Mycoplasmas from the external ear canal of goats affected with contagious agalactiae, *Vet. J* 158, 152-154.

Glew MD, Papazısı L, Poumarat F, Bergonier D, Rosengarden R, Citti C (2000), Characterization of a multigen family undergoing high-frequency DNA rearrangements and coding for abundant variable surface proteins in *Mycoplasma agalactiae*, *Infection and Immunity*, p,4539-4548.

Hasso S, Al-Aubaidi JM, Al-Darraji AM (1993), Contagious agalactia in goats: It's severity as related to the route of infection and pregnancy, *Small Rum.Res* 10, 263-275.

Jevhlinger W, Chopra-Dewasthaly R, Glew M, Citti, Rosengasten R (2004), Molecular basis of *Mycoplasma agalactiae* pathogenicity, *Berl. Munch Tierarztl Wochenschr.* 117(11-12), 472-479.

Kızıllı Ö, Özdemir H (2006), Clinical, haematological, and biochemical studies in goats naturally infected with *M. agalactiae*, *Bull Vet Inst Pullawy*, 50. 325-328.

Kinde H, DaMassa AJ, Patricia S, Wakenell RP (1994), *Mycoplasma* infection in a commercial goat dairy caused by *M. agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *Mycoides* (caprine biotype). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 6, 423-427.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC (1997), *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Fifth Edition. Page 857, Lippincott-Raven Publisher/USA.

Lambert M, Cakamel M, Du Four P, Cabasse E, Vitu C, Perales A., (1995), Immunoprophylaxis of caprine contagious agalactia due to *M. agalactiae* with an inactivated vaccine, *Vet Rec* 137, 266-269.

Lambert M, Calamel M, Dufour P, Cabasse E, Vitu C, Pepin M (1998), Detection of false-positive sera in contagious agalactia with a multiantigen ELISA and their elimination with a protein G conjugate, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 10. 326-330.

Langford EV, (1971), *Mycoplasma* and associated bacteria isolated from ovine pink-eye. *Can. J., Comp Med* 35, 18-21.

Loria GR, Pirano C, Worth DR, Caracappa S, Nicolas RAJ (1999), Identifikasyon and antibiotic susceptibility of mycoplasmas associated with contagious agalactia in Sicily. European Commission, Brussels, Belgium, 116-118. "Alınmıştır" Gil MC, Pena FJ, Hermoso de Mendoza J, Gomez L (2003), Genital lesions in an outbreak of caprine contagious agalactiae caused by *M. agalactiae* and *Mycoplasma putrefaciens*, *J Vet Med. B* 50, 480-487.

Loria GR, Caracappa S, Monteverde P, Nicholas RAJ (2007), Infezione da *mycoplasma agalactiae* in cervelli ovini: un nuova sito di infezione, *Large Anim Rev* 13, 65-68.

- Madanat A, Zedulkova D, Posbisil Z (2001), Contagious agalactiae of sheep and goats. A Review, *Acta Vet Brno* 70, 403-412.
- Nascimento ER, Nascimento MGF, Freundt EA, Andersen H. (1986), Isolation of *Mycoplasma mycoides* from outbreaks of caprine mycoplasmosis in Brazil, *Brit Vet J* 142, 246-257.
- Nicholas RAJ. (1998), Surveillance for contagious agalactia in Great Britain. In: *Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, Vol. 2. "Alınmıştır" Leori G, Santini F, Scanziani E, Frey J (1999), European Commission, Brussels, Belgium, 95-97.
- Nicholas RAJ (2002), Improvement in the diagnosis and control of diseases of small ruminants cause by mycoplasmas, *Small Rum Res* 45, 145-149.
- Nicholas RAJ, Ayling RD, Loria GR (2008), *Ovine mycoplasmal infections*. *Small Ruminant Research* 76, 92-98.
- Pepin M, Dufour P, Lambert M. (2003), Comparison of three enzyme-linked immunosorbent assays serologic diagnosis of contagious agalactiae in sheep, *Journal of Veterinary Diagn Invest* 15, 281-285.
- Pirali Kheirabadi KH, Ebrahimi A (2007), Investigation of *Mycoplasma agalactia* in milk and conjunctival swab samples from sheep flocks in west central Iran, *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10 (8), 1346-1348.
- Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR. (1994), *Clinical Veterinary Microbiology*, Page 320, Wolfe Publishing, London.
- Rodriquez JL, Poveda JB. Oros J, Herraiez P, Sierra MA, Fernandez A (1995), High mortality in goats associated with the isolation of a strain of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (Large Colony Type), *J Vet Med B* 42, 587-593.
- Schaeren W, Nicholet J (1982), Micro-ELISA for detecting contagious agalactia in goats, *Schweiz Arch Tierheilkd* 124, 163-177.
- Suprahamaniam S, Bergonier D, Poumarat F, Copual S, Schlatter Y, Nicolet J, Frey J (1998), Species identification of *Mycoplasma bovis* and *M. agalactiae* based on the *uvrC* gene by PCR, *Mol Cell Probes* 12, 161-169.
- Tola S, Angioi A, Rocchigiani AM, Indini G, Manunta D, Gallri G, Leori G (1997), Detection of *M. agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction, *Vet Microbiol.* 54, 17-22.

Tola S, Manunta D, Rocca S, Rocchiaiani AM, Idini G, Angioi PP, Leori G (1999), Experimental vaccination against *Mycoplasma agalactiae* using different inactivated vaccines, *Vaccine* 17, 2764-2768.

Turkaslan J (1990), Control of important mycoplasma diseases in Turkey with special emphasis on CCPP and contagious agalactia, *IOM Lett* 1, 184-185.

Verbisck-Bucker G, Gonzalez-Candela M, Gallian J, Cubero-Pablo MJ, Martin-Atance P, Leon-Vizcaino L (2008), Epidemiology of *Mycoplasma agalactiae* infection in free-ranging Spanish ibex (*capra pyrenaica*) in Andalusia, southern Spain, *J Wildl Dis* 44(2), 369-380.

Zendulcova D, Ball HJ, Madanat A, Lany P, Pospisil Z (2004), Detection of *Mycoplasma agalactiae* antigen in sheep and goats by monoclonal antibody-based sandwich ELISA, *Acta Vet Brno* 73, 461-464.

ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Ağrı İli Doğubayazıt ilçesinde doğdu. İlköğretim, ortaöğretim ve lise öğretimini Mersin’de tamamladı. 1993 yılında Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesini Kazandı. 2000 yılında yatay geçiş yaptığı Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldu. 2005 yılında YYÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans’a başladı. Halen Ağrı İli Diyadin ilçesi Belediyesinde Veteriner Hekim olarak çalışmaktadır. Evli ve bir çocuk babasıdır.