

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KARS YÖRESİNDE KOYUN PNÖMONİLERİNDEN MİKOPLAZMALARIN
İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU VE ANTİBİYOTİKLERE OLAN
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Vet.Hek. Salih OTLU

DOKTORA TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof.Dr. B.Erdoğan FİNCİ

1996 - KARS

1. İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Önsöz.....	1
Giriş.....	3
Materyal ve Metot.....	33
Bulgular.....	42
Tartışma ve Sonuç.....	50
Türkçe Özet.....	60
İngilizce Özet (Summary).....	62
Kaynaklar.....	64
Teşekkür.....	77
Özgeçmiş.....	78

2. ÖNSÖZ

Koyun yetiştiriciliği yapılan birçok ülkede solunum sistemi infeksiyonları önemli bir yer tutmakta ve büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Pnömoni başlığı altında toplanılan bu infeksiyonlar, polifaktöryel bir etiyolojiye sahip olup son yıllarda yapılan araştırmalarla özellikle subakut ve kronik pnömonilerde mikoplazmaların etiyolojik önemi vurgulanmaktadır. Pnömoni; yaklaşık 45 milyon koyun varlığı ile sayılı ülkeler arasında yer alan ülkemizde de İç Anadolu, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerimizde oldukça yaygın olarak görülmekte, verim düşüklüğü, tedavi masrafları ve ölümlere neden olmaktadır.

Koyunlarda mikoplazmalardan ileri gelen solunum sistemi infeksiyonlarında, klinik ve patolojik bulguların yeterince tanımlayıcı olmaması nedeniyle infeksiyonun kesin tanısı, direkt olarak lezyonlu akciğerlerden etken izolasyonu, indirekt olarak ise enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), komplement fikzasyon testi (CFT), aglütinasyon testi (AT), agar jel diffuzyon testi (AGDT), üreme inhibisyon testi (Growth Inhibition Test-GIT) ve fluoresan antikor testi (FAT) gibi serolojik testlerle yapılmaktadır.

Mikoplazmaların üretilibilmeleri için selektif besiyerlerine gereksinim duyulmakta, türlerin

identifikasyonlarında daha çok glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, fosfataz testi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, hemoliz testi ve üreme inhibisyon testi gibi testlerden yararlanılmaktadır.

Mikoplazmaların neden olduğu pnömonilerin tedavisinde etkenlerin duyarlı olduğu antibiyotiklerin kullanılmasıyla başarılı sonuçlar alınmasına rağmen, infeksiyondan korunmak için henüz etkin bir aşı geliştirilememiştir.

Yurdumuzda konuyla ilgili çalışmalar az sayıda da olsa mevcut olup yöremizde ise pnömoni vakalarının çok yaygın olmasına karşın yapılan literatür taramalarında konuyla ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, Kars yöresinde yaygın olarak gözlenen koyun pnömonilerinden mikoplazmaların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır. Çalışmada mikoplazmalar dışında diğer bakteriyel etkenler de belirlenecektir.

3. GİRİŞ

Koyun hastalıkları arasında büyük bir yer tutan pnömoni; genellikle bronşiyol ve alveolleri kapsayan akciğer dokusunun yangısı olup bu yangı sık sık plöraya da yayılmaktadır (31,136,149). Pnömoni; bakteriler, mikoplazmalar (24,93), viruslar (149), klamidyalara (90), mantarlar ve parazitler (18) tarafından meydana getirilen polietiyolojiye sahip bir enfeksiyondur. Ayrıca bakım ve besleme hataları (31,42), ani iklim değişiklikleri, tozlu havanın solunması, yorgunluk, sıkışık barındırma (15,110), açlık, vücudun direncini azaltan diğer hastalıklar (149) nakil ve stres (58,72) gibi organizmanın genel ve lokal savunma sistemlerini zayıflatan birçok predispoze faktör pnömoninin hazırlayıcı nedenleri arasında kaydedilmektedir. Pnömoniler enfeksiyonun süresine (akut, subakut, kronik), oluşan yangının karakterine (eksudatif, proliferatif), lezyonun lokalizasyonuna (lober, lobüler, interstisiyel) ve etiyojilerine göre (bakteriyel, mikoplazmal, viral, mikotik, paraziter) sınıflandırılmaktadırlar (8,31,60,111,146,).

Koyunlarda gözlenen nonprogressif pnömoni; genellikle bir yaşına kadar nadiren daha yaşlı koyunlarda oluşan kronik (82), çoğunlukla subklinik seyirli (31) mortalitesi düşük bir enfeksiyöz hastalıktır (93,136). Hastalığın tanımı ilk kez 1963 yılında Stamp ve Nisbet (132) tarafından patolojik bulgulara dayanılarak

yapılmış ve ''Öldürücü Enzootik Pnömoni '' den ayrı olarak ele alınarak Atipik Pnömoni olarak adlandırılmıştır. Hastalığı ifade etmek için Proliferatif İnterstisiyel Pnömoni, Lober veya Enzootik Pnömoni, Apikal pnömoni ve Proliferatif Eksudatif Pnömoni (bu son ifade deneysel olarak oluşturulan pnömoniyi atipik pnömoniden ayırt etmek için kullanılmaktadır) de denilmektedir (72,82).

Koyunlarda oluşan atipik pnömoninin primer etkeninin *Mycoplasma ovipneumoniae* olduğu (18,19,82,90,106,136,) çoğu olgularda *Pasteurella haemolytica*' nin da sekonder olarak infeksiyona katıldığı (18,20,90,94,) ve hastalığın şiddetini artırdığı (51,84) bildirilmektedir. İnfeksiyonun etiyolojisine yönelik olarak araştırma yapılan birçok ülkede hastalık olgularından *Mycoplasma arginini* ve diğer bazı mikoplazma türleri de izole edilmekte (98,102,135) fakat bu etkenlerin hastalığı oluşturmadaki rolü hala tartışılmaktadır (51,80,85). Koyunların solunum sistemi hastalıklarından daha az sayıda olmak üzere *Staphylococcus spp.* (90,135), *Streptococcus spp.*(110), *Klebsiella spp.*, *P.multocida* (149) *Chlamydia psittaci*, Koliform bakteriler, *C. pyogenes* (19,24,135) *Acholeplasma laidlawii* (37,43) ve *Ureaplasma* (89) gibi bakteriler de izole edilmektedir. Koyun pnömonilerinden ayrıca *Parainfluenza 3* , *Adenovirus*, *Syncytial virus* ve *Reoviruslar* gibi çeşitli virusların da izole edildiği

(31,75,114) ve hastalıkla ilişkili olabilecekleri vurgulanmaktadır (93,103).

Mikoplazmalar ilk olarak 1898 yılında Fransız bilim adamları Nocard ve Roux tarafından Sığırların Contagious Pleura Pneumoniae (CBPP) hastalığından izole edilmiştir (124). Koyun ve keçilerde ise ilk mikoplazma izolasyonu 1923 yılında Asya ve Avrupa sürülerini uzun süre etkileyen Contagious Agalactiae (CA) hastalığının araştırılması sırasında Bridre ve Donatian (36) tarafından yapılmıştır. Bugün Mycoplasma agalactiae olarak bilinen bu etkenin ve sonradan izole edilen diğer mikoplazmaların sığırların bulaşıcı plöropnömoni hastalığı etkenine benzerliğinden dolayı Pleura Pneumoniae Like Organisms (PPLo) olarak adlandırılmışlardır (29). Mikoplazmaların proteolitik aktivitesi ilk defa Longley (99) tarafından 1951 yılında pnömonili keçi akciğerinden elde edilen mikroorganizmanın üremesi için koyun ve keçi serumunu pıhtılaştırarak kullanıldığında gözlenmiştir. Smith ve Morton (131) 1951 yılında PPLo' ların üremeleri için çeşitli serum kullanılmasını ve serumdaki üreme faktörüne ihtiyaç olduğunu açıklamıştır. Koyun pnömonilerinden mikoplazmaların ilk izolasyonu ise 1955 yılında Greig (71) tarafından Kanada' da bildirilmiştir. Aynı yıl içerisinde Durusan ve Doğer (54) Türkiye'de kuzuların pnömonik akciğerlerinden, mikoplazma izole etmişlerdir. Adler ve Yamamoto (1) 1956 yılında besiyerinde maya

preparasyonlarının katılmasının değer taşıdığını belirtmişlerdir. Mikoplazmaların hala kullanılmakta olan son klasifikasyonları Edward ve Freundt (55) tarafından 1956 yılında yapılmıştır. İlerleyen tarihlerde Nobel (105) 1958 yılında İsrail' de, Boidin ve ark. (32) aynı yıl Amerika' da, MacKay ve ark. (101) 1963 yılında İngiltere'de, Deiana ve ark. (53) 1967 yılında İtalya'da pulmoner adenomatosislili koyunların pnömonik akciğerlerinden mikoplazma izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Koyunların solunum sisteminden glikolitik mikoplazmaların ilk izolasyonu MacKay ve ark. (100) tarafından pulmoner adenomatosislili koyun akciğerlerinden İskoçya'da yapılmıştır. Erdağ ve ark. (59) 1967 yılında yurdumuzun çeşitli bölgelerinden koyun ve keçilerden izole edilen mikoplazma suşlarını koloni görünüşlerine , morfoloji, hemoliz yapma (at, tavuk ve koyun kanında), glikoz fermentasyonu, buyyonda pH değiştirme kabiliyetlerine ve antijenik karakterlerine göre A, C ve N tipleri adları altında gruplandırarak, Tip A' nın koyun ve keçilerde Kontagiyöz Agalaksiya' nın (CA) etkeni, Tip C' nin keçi plöropnömonisiyle ilgili olduğunu, tip N' nin ise patojen olmadığını belirtmişlerdir. Bu araştırmacıların N tipi olarak adlandırdıkları etkenin M.arginini olduğu ilk kez Barile ve ark. (22) tarafından 1968 yılında tanımlanmıştır. Kraus ve Wandera (96) 1970 yılında Kenya' da koyunların solunum sistemlerinden izole ettikleri mikoplazma

suşlarını koloni morfolojileri ve kültürel özelliklerine göre fermentatif olmayıp hızlı üreyenler, kısmen fermentatif olup yavaş üreyenler ve saprofitikler olarak üç grupta ele almışlardır. Carmichael ve ark. (40) 1971 yılında Avustralya'da kronik proliferatif interstisiyel pnömonili kuzuların bronş ve trakealarından yeni bir mikoplazma türü izole etmişler, koloni karakterleri, biyokimyasal testler ve serolojik açıdan inceledikleri bu suşun adını *M.ovipneumoniae* olarak önermişlerdir. Ionas ve ark. (77) kronik nonprogressiv pnömonili koyunların akciğerlerinden izole edilen *M.ovipneumoniae* suşlarının restriction endonülease analysis (RAE) yöntemiyle incelemelerinde, aynı akciğerden izole edilen *M.ovipneumoniae* suşları arasında dahi homojenlik bulunmadığını bildirmişlerdir. Daha sonraki yıllarda birçok ülkede koyunların solunum sistemi hastalıklarından direkt yada indirekt tanı yöntemleriyle mikoplazmaların primer yada sekonder etken olarak ayrıldıkları bildirilmiştir (19,43,76,77,102,113). Koyun ve keçilerden yeni mikoplazma türlerinin izolasyonları özellikle insan ve kanatlı mikoplazmaları üzerinde yapılan araştırmalar ve geliştirilen metodlarla özellikle son 10 yılda hız kazanmış ve genel olarak koyun ve keçi mikoplazmaları bazı istisnalar dışında birlikte ele alınmışlardır (48). Yurdumuzda mikoplazmalardan ileri gelen özellikle koyun ve keçilerin Kontagiyöz Agalaksiya Hastalığı (28,59,61)

ve Keçi Ciğer Ağrısı (13,16,78) üzerinde birçok değerli araştırmalar yapılmıştır. Ancak koyun ve kuzu pnömonilerinde mikoplazmaların etiyolojik rolleriyle ilgili olarak yapılan araştırmalar daha az sayıdadır (5,57,72). Buna neden olarak mikoplazmaların etken olduğu pnömonilerin çoğu kez bakterilerin iştiraki sonucu, oluşan lezyonların örtülmesi ve mikoplazmaların üretilmesindeki güçlükler ileri sürölmektedir (18,31).

Koyun pnömonilerinden tek başına (7,135,137) yada diğer etkenlerle birlikte (43,57,72,102) sıklıkla izole edilen mikoplazmalar; doğada, bitkilerde, insektlerde, insan ve birçok hayvan türünün çeşitli organ ve sistemlerinde saprofitik, kommensal ve patojenik olarak yaşayan (2,3,72,74,127) canlı ve cansız besiyerlerinde üreme yeteneğine sahip en küçük ve en basit prokaryotlardır (15,74,109). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology' nin 1984 yılı basımında (volum 1) mikoplazmalar Prokaryot alemi içerisinde Tenericutes bölümü, Mollicutes sınıfına bağlı Mycoplasmatales takımında yer almaktadırlar (122). Bu takımda Mycoplasmataceae, Acholeplasmataceae ve Spiroplasmataceae olmak üzere üç familya bulunmaktadır (41,65,128). Mycoplasmataceae familyası Mycoplasma ve Üreaplasma olmak üzere iki cins iğeremektedir. Mycoplasma cinsi üremeleri için sterole gereksinim duyan (123), nonhelikal, fakültatif anaerob veya mikroaerofilik mikroorganizmalar olup (15,58) üreaz aktivitesine sahip olmamalarıyla

(74,127) Ureaplasma cinsinden ayrılırlar. Acholeplasmataceae familyasında yer alan Acholeleplasma cinsi üremeleri için sterole ihtiyaç duymazlar (144). Spiroplasmataceae familyasında üremeleri için sterole ihtiyaç duyan, helikal Spiroplasma cinsi (T mycoplasma) bulunmaktadır (65).

Mikoplazmaları diğer prokaryotik mikroorganizmalardan ayıran en önemli özellik hücre duvarlarının bulunmamasıdır (4,97,109,120). Bu nedenle pleomorfik olan mikoplazmalar, mikroskopik incelemelerde kokoid, filamentöz, branşlı, armut biçiminde vs. görülürler (15,57,120). Boyutları 0.3- 0.8 mikrometre olup (127), 0.45 mikrometrelilik milipor filtrelerden geçebilmektedirler (124). Gram negatif olmalarına karşın Gram metoduyla iyi boyanmazken Giemsa, Machiavello, Castaneda ve Stamp gibi boyamalarla daha iyi boyanırlar (15,29). Katı besiyerlerinde üreyen kolonilerin boyanması için en uygunu Dienes boyama metodudur (119). Bunların dışında etkenin mikroskopik incelemelerinde karanlık alan (41,138) ve faz kontrast mikroskopisi (34,91) de kullanılmaktadır. Mikoplazmalar sporsuz, kapsülsüz ve hareketsizdirler. Bazı türlerin sıvı ortamda kayma hareketi yaptıkları saptanmıştır (74). Fakültatif anaerobdurlar ancak üremeleri üzerine % 5-10 CO₂ olumlu etkimektedir (72,95,120). Hücre DNA' sı sirküler, çift iplikcikli bir yapıda ve molekül ağırlığı 5.0×10^8 daltondur. DNA' nın G + C oranı diğer prokaryotlardan

düşük olup % 23-40 arasındadır (15,41,109). Hücre bölünmesi, DNA bölünmesiyle eş zamanlı olmadığı için çok çekirdekli branşlı filamentler oluşabilmektedir (29,74). Stoplazma membranı yapısal olarak ökaryotik hücre membranına benzer ve üç kattan oluşmuştur. Bu membran 8-15 nm. kalınlıkta olup membranda bulunan lipid bakterilerin aksine kolesterol veya karotenoid yapıdadır (120,127). Membranda bulunan karbonhidrat molekülleri komplemanın fikse edilmesi, nötralizan antikorların saptanması ve suşlar arasındaki kros reaksiyonlarda görev alır (15). Membranın dış kısmına lokalize olan polipeptidler antijenik karakterde ve kolesterol ile fosfolipid molekülleri arasında dağılmışlardır. Membranda peptidoglikan molekülü bulunmadığından mikoplazmalar penisilin, sikloserin, basitrasin gibi antibiyotiklere dirençli olup lizozimden de etkilenmemektedirler (79,120). Kokoid formda olan mikoplazmaların ortadan ikiye bölünerek, filamentöz olanların elementer cisimcikler yardımıyla ve bazılarının da tomurcuklanmaya benzer tarzda üredikleri (15,117), jenerasyon sürelerinin ise 1-3 saat arasında olduğu saptanmıştır (109). Mikoplazmaların çeşitli şekerleri fermente etme yetenekleri genellikle zayıf olup glikoz, fruktoz, mannoz, maltoz, nişasta, glikojen gibi karbonhidratları asit oluşturarak fermente etmektedirler (121). Mikoplazmalar et infuzyon, pepton, tuz, % 20 at serumu, % 10 maya ekstraktı içeren ortamlarda iyi

üremektedirler (41,107). Diğer bakterilerin üremelerini engellemek için besiyerlerine penisilin (100-500 IU/ml), ampisilin (0.5 mg/ml), talyum asetat (1/4000) gibi antibiyotikler ilave edilmektedir (41,66). Üremeleri için optimum pH 7.5-7.8 olup 37 C'de nemli ve mikroaerofilik ortamda iyi ürerler (29,67,126,128). Katı besiyerlerinde mikoplazmalar genellikle 4-5 günden sonra 1 mm den daha küçük ortası düğmeli '' fried egg '' diye tanımlanan, sahanda yumurta şeklinde, kenarları transparan koloniler oluşturmaktadırlar (74). Koloniler besiyerinin içerisinde doğru üremekte ve kolonileri öze ile almak güç olmaktadır. Mycoplasma ovipneumoniae gibi bazı mikoplazma türleri ise %1.5-2 oranında agar içeren besiyerlerinde merkezsiz, granüler bir tarzda koloni meydana getirmektedirler (134). Mikoplazmaların çoğu alfa yada beta hemoliz oluşturma yeteneğindedirler (15,68). Mikoplazmalar sıvı besiyerlerinde 4-5 gün içerisinde gözle güç faredilebilecek homojen bir bulanıklık meydana getirerek ürerler (15). Suni besiyerleri dışında, embriyolu tavuk yumurtaları (14,29) ve tavuk kalbi fibroblast, insan konjonktival hücre, HeLa gibi çeşitli hücre kültürlerinde de üreyebilen mikoplazmalar (15,41) bunlarda dejenerasyonlar (CPE) meydana getirmektedirler. Mikoplazmaların hücre duvarı bulunmadığı için çeşitli faktörlere karşı bakterilerden daha dayanıksızdırlar. Kuruluk, güneş ışını, ozmatik şok gibi fiziksel (18), deterjan, alkol ve dezenfektanlar

gibi kimyasal (15,41) etkenlere duyarlıdırlar. Beşe (26) mikoplazma kültürlerinin oda ısısında 4 ay, 37 C'de 7 ay, 4 C'de 5 ay ve -20 C'de 3 yıl canlı kaldığını, Gürtürk (73) M.capri suşunun -20 C'de bir yıldan fazla virülensini koruduğunu bildirmiştir. Ünlü (147) soğğun PPLO suşlarına tesiri olmadığını, -30 C'de patolojik materyalin bir yıl muhafaza edildiğini, Aktan (6) karanlıkta oda derecesinde mikoplazma kültürünün 12 yıl canlı kaldığını bildirmiştir. Mikoplazmaların antijenik determinantları hücre membranında bulunan proteinler, lipitler ve polisakkaritlerdir (140). Bu antijenik yapıları incelemede aglütinasyon (15), komplement fikzasyon (41), agar jel diffuzyon, üreme inhibisyon (44), metabolik inhibisyon, indirek hemaglütinasyon (81), elisa ve fluoresan antikor testi gibi birçok test kullanılmaktadır. Mikoplazmalar immun homolog serumlarla inhibe olmaktadır. Bu nedenle üreme inhibisyon testi çok spesifik bir test olup türlerin identifikasyonunda kullanılmaktadır (144). Mikoplazmaların, bakterilerin L formlarına bireysel ve koloni morfolojileri açısından benzemelerine (15,120) rağmen L formları, genellikle laboratuvar şartlarında oluşturulmakta ve hücre duvarı sentezine engel olan substantlar (penisilin, lizozim, antikor vs.) ortadan kaldırıldığında, hücre duvarı sentezi gerçekleştirerek ana formlarına dönüşebilmektedirler (91).

Üremeleri için serum veya kolesterole ihtiyaç duymayan Acholeplasma'lar; hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz ve genellikle saprofitik karakterdedirler (14,74). Karbonhidratları fermente ederken, arjinin ve üreyi hidrolize etmezler (15,65). Acholeplasmalar % 1.5 dijitonine dirençli yada az duyarlıdırlar (144). İnsan, hayvan, bitki ve insektlerde kommensal olarak bulunmaktadır.

Üremeleri için sterole gereksinim duyan Ureaplasma'lar insan ve hayvanların ürogenital sistemlerinde, solunum sistemlerinde ve ağızlarında bulunmaktadır (15,143). Arjinin ve karbonhidratları fermente etmeyen Ureaplasma'lar üreyi hidrolize etmektedirler (41,118). Optimum pH 6' da ürerler ve katı besiyerlerinde çok küçük olan kolonileri 15-60 mikrometre çapındadır (65).

Mikoplazmalar evcil hayvanların tümünde patojen, kommensal yada saprofitik bir yaşam sürdürmekte (18,41,92) mukozal yüzeylere kolonize olarak solunum sistemi, ürogenital sistem ve gastrointestinal sistemden izole edilmektedirler (45,127). Evcil hayvanlarda ve insanlarda mikoplazmaların sebep oldukları bilinen hastalıklar genel olarak; 1- Septisemi 2- Henüz tam olarak ortaya konamamış mikoplazmaemik fazı takip ederek oluşan eklemelerde ve/veya serozal boşluklarda yangı ve lokalizasyon 3- Solunum sistemi, genital sistem,

meme bezleri veya Konjuktivanın lokal infeksiyonları olarak gruplandırılmaktadır (127).

Mikoplazmaların bir kısmı yalnızca bir organa affinite gösterirken bir çoğu farklı organ ve dokulardan izole edilebilmektedirler (18,45). Bugüne kadar tanımlanan birçok mikoplazma türü, konakçıya spesifik olup genellikle konakçı adlarıyla (insan ,sığır, koyun, keçi, kanatlı vs.) anılırlar (45). Mikoplazmalardaki konakçıya karşı gösterilen bu spesifitenin nedeninin konakçıya ait reseptörler olabileceği gibi konakçının etkeni tanıma ve cevap vermedeki yetersizliğinden de kaynaklanabileceği bildirilmiştir (127).

Mikoplazmaların sentezleyemedikleri yaşamsal besin maddelerini, üreme faktörlerini ve nükleik asit maddelerini assimile etmek için konakçı hücresiyle temas halinde bulunmaları gerekmektedir (41). Genellikle solunum sistemi patojeni olan mikoplazma türlerinde bu tutunma, membranlarında bulunan ve aynı zamanda immunojenik etki de gösteren bağlayıcı proteinler yardımıyla olmaktadır (127). Epitel hücrelerine tutunan mikoplazmalar, siliyar hareketi durdurma, silyaları tahrip etme, hücrenin oksidasyon ve peroksidasyon sistemlerini bozmak gibi etkilerle epitel hücrelerde sitopatik değişikliklere neden olurlar. (136). Mikoplazmalar komplementi aktive ederek selüler ve humoral bir seri reaksiyonlarla yüzeysel yangı meydana getirmekte, lenfosit ve makrofaj hücre infiltrasyonuna

yol açmaktadırlar. Mikoplazmaların makrofaj hücrelerinin fagositoz aktivitesini zayıflatıcı ve lenfositlerin immunolojik etkinliklerini azaltıcı etkilerinin de bulunduğu bildirilmektedir (18). Mycoplasma neurolyticum'un protein karakterinde ve termolabil özellikte bir ekzotoksin oluşturduğu bu toksinin farelere intravenöz inokülasyonu sonucu birkaç saat içinde ölüm meydana getirdiği saptanmıştır (15,127). Aynı şekilde M.gallisepticum'un da hindilerde nörotoksik etkiler oluşturduğu fakat toksinin tanımlanamadığı bildirilmektedir (127). M.mycoides'in (SC tipi) fenollü fizyolojik tuzlu suyla elde edilen ekstraktının tavuk embriyoları üzerine letal bir aktivitesi olduğu belirlenmiştir (41). Buddle ve ark. (38) pnömonik ve normal akciğerlerden izole edilen M.ovipneumoniae ve M.arginini suşlarının virulansını fare meme bezlerinde incelemişler, pnömonik akciğerlerden elde edilen 3 M.ovipneumoniae suşunun değişik derecelerde mastitis meydana getirdiğini, kalan M.ovipeumoniae ve M.arginini suşlarının çok hafif bir histopatolojik değişiklik oluşturduğunu bildirmişlerdir. Mycoplasma bovis'in membranından ekstrakte edilen bir polisakkaritin ineklerin memelerinde ve kobayların derilerinde yangı meydana getirdiği de saptanmıştır (127). Diğer mikoplazma türlerine ait bir toksin varlığı bildirilmemiştir.

Atipik pnömoni, intensif ve yarı intensif yetiştiricilikte daha fazla görülmekte hastalık

ekstansif yetiştiricilikte ise seyrek olarak meydana gelmektedir (82). Hastalığın bulaşması solunum sistemiyle olmakta, infeksiyon ekzojen yada endojen kaynaklı oluşabilmektedir (41,82). İnfekte koyunlara ait pnömonik akciğer homojenatlarının kuzulara intratrakeal yada aerosol olarak burundan uygulanmasıyla hastalık oluşturulabilmektedir . İonas ve ark. (76). koyunların burun mukozasında *M.ovipneumoniae* taşıyıcılığının genel olarak %5 oranında bulunduğunu bu oranın sonbaharda %70 'lere kadar artabildiği, bu taşıyıcılığın infeksiyonun kuzulara bulaşmasında önemli bir infeksiyon kaynağı olduğunu bildirmişlerdir. Hastalığın deneysel olarak meydana getirilmesi ve bulaştırılmasıyla ilgili olarak yapılan araştırmalarda SPF ve konvansiyonel tarzda yetiştirilen kuzular kullanılmış ve farklı sonuçlar alınmıştır. Jones ve ark. (84) 6 doğal atipik pnömoniden elde edilen akciğer süspansiyonunu ve farklı akciğerlerden elde edilen 6 değişik *M.ovipneumoniae* suşundan oluşan karışık kültürü, gruplara ayırdıkları SPF ve konvansiyonel olarak yetiştirilen kuzulara inokule ederek karşılaştırdıklarında kuzularda oluşan klinik ve patolojik bulguların benzer olduğunu, etkenin aynı oranda yeniden izole edildiğini, histopatolojik olarak akciğer süspansiyonu verilen kuzularda daha yüksek oranda proliferatif eksudatif pnömoni oluştuğunu, bunun *M.ovipneumoniae* kültürünün attenüasyonundan ileri gelebileceğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar

yaptıkları başka bir deneysel çalışmada, bir grup SPF kuzuyu *M.ovipneumoniae* karışık kültürü ile diğer bir grubu ise bir tek *M.ovipneumoniae* kültürü ile inokule ettikten 3 gün sonra *P.haemolytica* uygulanan kuzularda , karışık kültür verilen kuzularda oluşan makroskobik akciğer lezyonlarının ve proliferatif eksudatif pnömoni oluşumunun tek bir suş inokule edilenden daha şiddetli olduğunu bildirmişlerdir (83). Foggie ve ark. (63) *M.ovipneumoniae* kültürü ile endobronşiyal yolla infekte edilen 6 SPF kuzunun akciğerlerinde hafif derecede lezyonların oluştuğunu etkenin tekrar izole edildiğini, infekte edilen 2 kuzu ile birarada tutulan 6 SPF kuzuda ise patolojik bir lezyon görülmediğini, Davies ve ark. (52) SPF kuzulara yalnızca *M.ovipneumoniae* inokülasyonu ile akciğerlerde makroskobik yada mikroskobik bir lezyonun oluşmadığını, PI 3 virusunu takiben veya *P.haemolytica* ile birlikte verilmesiyle de hastalığın oluşumunda etkili olmadığını bu nedenle *M.ovipneumoniae*'nin primer yada sekonder bir akciğer patojeni olamayacağını öne sürmüşler, PI 3 virusunun verilmesini takiben *P.haemolytica* inokule edilen 9 kuzunun 8'inde pnömoni oluştuğunu bildirmişlerdir. Foggie ve ark. (62) sahadan izole edilen bir *M.arginini* suşunun SPF kuzulara inokule edilmesiyle akciğerlerde makroskobik bir bulgu oluşmadığını, mikroskobik olarak çok hafif proliferatif değişiklikler bulunduğunu belirterek, *M.arginini*'nin vücudun direncinin zayıfladığı

durumlarda vücuda invaze olabileceğini bildirmişlerdir. Jones ve ark. (85) kuzular üzerinde yaptıkları deneysel bir çalışma sonucunda *M.arginini*'nin akciğerleri *P. haemolytica*'nın sekonder invazyonuna predispoze kılamayacağını, ayrıca *M.ovipneumoniae*'nin de *P.haemolytica* tarafından oluşturulan pnömonik belirtileri de artıramayacağını öne sürmüşlerdir. Alley ve ark. (9) konvansiyonel olarak yetiştirilen 5 aylık 20 kuzuya pnömonik akciğer homojenatının intranazal inokülasyonu ile 17 (%85) kuzuda doğal olarak oluşan nonprogressiv pnömoni vakalarından ayırt edilemeyen lezyonların görüldüğünü, *M.ovipneumoniae* taze kültürü ile inoküle edilen 20 kuzunun ise ancak 4'ünde (%20) pnömonik lezyonların oluştuğunu saptamışlardır. Mohan ve ark. (104) sağlıklı 172 keçiden aldıkları burun swaplarının 112'sinden *M.ovipneumoniae* izole etmişler izolatlardan kuzu ve oğlaklara verilmesiyle klinik olarak hastalığın gözlenmediğini ancak bazı hayvanların akciğerlerinde interstisiyel pnömoni bulunduğunu, akciğer, lenf nodülleri ve trakeadan etkenin yeniden izole edildiğini bildirmişlerdir. Yapılan tüberkülin tip hipersensitivite testinde serumda etkene karşı antikor bulunamadığını bunun immunitölerans ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Polikarpov ve ark. (114) değişik mikoplazma suşlarıyla infekte edilen 26 kuzunun 11'inde kataral veya interstisiyel bronkopnömoni ile karakterize pnömoni oluştuğunu bildirmişlerdir. Alley ve Clarke (10)

mikoplazmal pnömoni şüpheli akciğer homojenatlarıyla infekte ettikleri kuzuları ronidazol, oksitetrasiklin, tylosin ve penisilin ile tedavi etmişler, bu antibiyotiklerin akciğerlerde mikoplazma ve bakterilerin üremesini ve lezyonların oluşumunu farklı derecelerde inhibe ettiklerini saptamışlardır. Araştırmacılar penisilin M.ovipneumoniae'nin akciğerlere kolonizasyonunu önleyemediğini, fakat 10 kuzunun 1'inde orta derecede lezyonlar görüldüğünü, tedavi edilmeyen 10 kuzunun 7'sinde ise orta yada şiddetli lezyonlar bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada yapılan histopatolojik yoklamalarda penisilinle tedavi edilen kuzuların 4'ünde (%40) hafif pnömoni bulguları saptanırken, tedavi edilmeyen 7 kuzuda ise hastalığın şiddetli seyrettiği saptanmıştır. Araştırmacılar hastalığın akciğer homojenatlarıyla bulaştırılabildiği bu çalışmada kuzuların nonprogressiv pnömonilerinin patogenezisinde bakterilerin de mikoplazmalar kadar önemli olduğunu öne sürmüşlerdir. Buddle ve ark. (39) M.ovipneumoniae ile inoküle edilen kuzularda pnömonik hiçbir lezyon bulunmadığını, yalnız P.haemolytica verilen kuzuların yarısında plörezi ile birlikte eksudatif ve purulent bronkopnömoni oluştuğunu, M.ovipneumoniae ile P.haemolytica'nın birlikte verildiği kuzularda ise P.haemolytica tipi lezyonların şiddetinde bir artış olmadığını bildirmişlerdir. Erdağ (57) infekte kuzu akciğerlerinden izole edilen merkezli ve merkezsiz koloni

oluşturan mikoplazma suşlarının deneysel olarak intratrakeal yolla kuzulara uygulanmasıyla akciğerlerde patolojik bir değişimin gözlenmediğini, ancak mikoplazmaların akciğerlerde hassasiyetin oluşmasına sebep olarak primer ve sekonder infeksiyonlara hazırlayıcı faktör teşkil ettiklerini bildirmiştir.

Koyunların subakut ve kronik pnömonilerinden mikoplazma suşlarının izole edildiğini bildiren birçok araştırma mevcuttur. El Mahi ve Nayil (56) 64 pnömonik koyun akciğerinden 11 mikoplazma suşu izole etmişler ve suşları koloni görünümü ile diğer biyolojik özelliklerine göre 2 gruba ayırmışlardır. Popovic ve ark. (115) pnömonik 32 kuzu akciğerinden 26 (%81), pnömonik 45 koyun akciğerinden ise 25 (%56) mikoplazma suşu izole etmişlerdir. Pasic ve ark. (112) pnömonikli 77 koyun akciğerinden 51 mikoplazma suşu izole ettiklerini bunların 35'inin *M.ovipneumoniae*, 14'ünün *M.arginini*, 2'sinin *Acholeplasma laidlawii* olduğunu belirtmişlerdir. All-Aubaidi ve ark. (7) keçilerin pnömonik akciğerleri ile artritisi eklemlerinden ve pnömonik koyun akciğerlerinden yaygın olarak *M.arginini* izole ettiklerini bu nedenle bu etkenin patojenik olabileceğini bildirmişlerdir. Tabatabayi ve ark. (135) subakut ve kronik pnömonikli 62 koyun akciğerinin 49'undan (%79), normal akciğerlerin ise %6.5'inden *M.arginini* ayırdıklarını ayrıca bazı akciğerlerden *P.multocida*, *P.haemolytica*, *Streptococcus sp.*, *Corynebacterium sp.*

gibi bakterilerinde izole edildiğini belirterek primer etkenin *M.arginini* olduğunu diğer bakterilerin ise sekonder etken olduğunu bildirmişlerdir. Chaturvedi ve ark. (43), yaş farkı gözetmeksizin koyunlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 32 nazal ve 41 trakeal swap ile 102 pnömonik akciğer materyali olmak üzere toplam 175 numuneden sırasıyla %28.1, %26.8 ve %21.5 oranında *Mycoplasma* ve *Acholeplasma* izole ettiklerini ve koyunların solunum sistemi hastalıklarında mikoplazmaların önemli bir etken olduğunu, Bakke ve ark. (20) subakut veya kronik pnömoni belirtileri gösteren kuzular ile sağlıklı kuzuların kesim sonrasında, akciğerleri üzerinde yaptıkları araştırmada, hasta kuzuların akciğerlerinden %98, sağlıklı kuzuların akciğerlerinde ise %28 oranında *M.ovipneumoniae* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar sağlıklı kuzuların akciğerlerinde %18, pnömonili olanlarda ise %49 oranında *Pasteurella haemolytica* izole edildiğini bu sonuçların subakut ve kronik pnömonilerde *M.ovipneumoniae*'nin önemini ortaya koyduğunu, *P.haemolytica* gibi bakterilerin sekonder etken olduklarını öne sürdükleri araştırmada, *M.arginini* ve viral etkenlere yönelik yapılan yoklamaların negatif olduğunu belirtmişlerdir. Malone ve ark. (102) klinik olarak pnömoni bulguları gösteren kuzulardan alınan nazal swap örneklerinden %71.3 *M.ovipneumoniae*, %25 *P.haemolytica*, % 1.3 *M.arginini* ve % 1.3 oranında PI 3

virusu bulunduğunu, yapılan histopatolojik incelemede 9 kuzuya ait pnömonik akciğerin 3'ünün atipik pnömoni olduğunu bunların hepsinden *M.ovipneumoniae* ve *P. haemolytica* izole edildiğini bildirmişlerdir. Nostvold ve ark. (106) subakut ve kronik pnömonili kuzuların kesim sonrası inceledikleri akciğerlerinde, bulunan lezyonların proliferatif eksudatif pnömoni tipinde olduğunu ve lezyonlardan sıklıkla *M.ovipneumoniae* izole edildiğini, mevcut mikoplazma sayısı ile lezyonların şiddeti arasında bir ilişki bulunduğunu vurgulayarak *M.ovipneumoniae*'nin subakut ve kronik pnömonilerde primer etiyolojik etken olarak önemini belirtmişlerdir. Bakke (19) subakut ve kronik pnömonili koyunlara ait akciğerlerden %87, normal akciğerlerden ise %6 oranında *M.ovipneumoniae* izole ettiğini, *P.haemolytica* 'nın ise daha düşük oranlarda ve genellikle *M.ovipneumoniae* ile birlikte izole edildiğini belirterek *M.ovipneumoniae*'nin primer etken olduğunu bildirmiştir. Pfeffer ve ark. (47) kuzularda pnömoninin mikrobiyolojisi ve prevalansını araştırdıkları bir çalışmada akciğerlerde görülen lezyonları büyük, küçük ve benekli lezyonlar olarak gruplandırmışlar, büyük lezyonların çoğunlukla atipik pnömoniye benzediğini bu lezyonlardan yüksek oranda *M.ovipneumoniae* ve *P.haemolytica* izole edildiğini, bu lezyonların özellikle kış aylarında arttığını bildirmişlerdir. Gharogozlou ve ark. (141) subakut ve kronik pnömonili koyunlara ait 88 akciğerin 56'sından *M.arginini* izole edildiğini bunların

34'ünün *P.multocida* gibi diğerk bakterilerle birlikte bulunduğunu bildirmişlerdir.

Mikoplazmalar hastalıklı ve sağlıklı koyun ve kuzuların burun mukozalarından da farklı oranlarda izole edilmektedir. Ionas ve ark. (76) kuzularda *M.ovipneumoniae*'nin burun mukozasına kolonize olma zamanı ve kesim sonrası akciğerklerdeki prevalansını araştırdıkları bir çalışmada 6-7 haftalık kuzuların burunlarında *M.ovipneumoniae* kolonizasyonuna rastlanmadığını, 8 aylık kuzularda ise birçok kuzunun burun mukozası ve akciğerklerinde etkenin izole edildiğini, izolasyon oranlarının mevsimsel aktivite ve stres faktörleriyle değiştiğini bildirmişlerdir. Alley ve ark. (11) 6-9 aylık kronik pnömonili ve sağlıklı koyunların nazal mikoplazma taşıyıcılığı ile ilgili olarak yaptıkları çalışmada, sağlıklı koyunlardan %48 oranında *M.ovipneumoniae*, %33 oranında *M.arginini*, pnömonik koyunlardan ise %70 oranında *M.ovipneumoniae*, %52 oranında *M.arginini* izole ettiklerini belirterek özellikle *M.ovipneumoniae*'nin koyunların kronik pnömonilerinin patogeneğinde bir rol oynayabileceğini bildirmişlerdir. Brodgen ve ark. (37) sağlıklı 558 koyundan aldıkları nazal swap örneklerinden 320 mikoplazma suşu izole etmişler, izole edilen mikoplazmaların 293'ünün *M.ovipeumoniae*, 12'sinin *M.arginini*, 1'inin *M.capriculum*, 2'sinin *Acholeplasma sp.*, 3'ünün izole edilemeyen *Mycoplasma sp.*, 9'unun ise

M.ovipneumoniae ile birlikte 3 Acholeplasma, 3 M.arginini, 2 M.capriculum, 1 identifiye edilemeyen Mycoplasma sp. olarak tanımlan dđđını açıklamışlardır.

Koyunlarda gözlenen mikoplazmal pnömoniler genellikle kronik ve orta şiddetli seyir göstermekte, (18,41) klinik bulgular öksürük, mukopruilent bir burun akıntısı, depresyon,iştahsızlık, solunum sayısında artış ve solunum güçlüğü olarak belirlemekte,bu bulgular özellikle egzersiz sonrası artış göstermektedir (136). Hastalığın insidensinde iki aylıktan büyük kuzularda artış gözlenmekte, bazı araştırıcılar tarafından buna neden olarak kolostrumla alınan antikörlerin 7 hafta sonra minimum düzeye düşmesi gösterilmektedir (136,94). Ayrıca sürüdeki yönetim, bakım ve besleme , yoğunluk gibi birçok faktör de hastalığın insidens ve şiddetini etkilemektedir (136). Hastalığın bir sürüde bulunan kuzuların %40'ını etkileyebileceği fakat klinik olarak hafif seyrettiği için hastalığın bazen gözden kaçtığı kaydedilmektedir (82).

Mikoplazmaların neden olduğu pnömoni olgularında meydana gelen makroskobik lezyonlar genellikle apikal ve kardiyak loplarda, bazen de diyaframatik lobun anterior kısmında bulunmaktadır (82,94,110,136). Oluşan lezyonlar sınırlı olup griden kırmızı-kahverengine değişen renklerde hepatize alanlarla karakterizedir (18,132). Bazen fibröz adezyonlarla karakterize bir plritisin de oluşabildiği bildirilmektedir (18,94). Mikroskobik olarak

oluşan lezyonların interstisiyel pnömoni ve lenfoid hiperplazisi olmak üzere iki tipte olduğu ve aynı akciğerde her iki lezyon tipinin de bir arada bulunabileceği kaydedilmektedir (94,132). Mikoplazmalardan ileri gelen pnömonilerin histolojik olarak incelenmelerinde özellikle bronş ve bronşiollerin duvarlarında görülen '' cuffs '' yada '' cuffing '' diye anılan proliferatif lenfoid folliküllerin hastalığın tanısı için çok önemli olduğu, bunun patognomik bir bulgu sayılabileceği belirtilmektedir (127,136). Nostvold ve ark. (106) subakut ve kronik pnömonili kuzuların akciğerlerinde oluşan lezyonların proliferatif eksudatif tipte olduğunu, histolojik olarak lenfoid dokuda, bronşiyol epitelinde ve bronşlarda proliferatif değişiklikler saptandığını bildirmişlerdir. Malone ve ark. (102) klinik olarak pnömoni bulguları gösteren 9 kuzuya ait akciğerlerin 3'ünde atipik pnömoni gözleendiğini, lezyonların hafif interstisiyel kalınlaşmadan bronşiyolar epiteliyal hiperplazi ve nekrozisli akut bronşiolitis ve alveolitise değiştiğini ayrıca peribronşiyal, peribronşiyoler ve perivasküler lenfoid yığınları bulunduğunu bildirmişlerdir. İnfeksiyonda meydana gelen diğer histolojik değişiklikler alveolar septumun kalınlaşması (136), septum ve bronşiyol epitellerinin hiperplazisi (113) ve alveol lumeninde bulunan çok sayıda makrofaj ve nötrofil infiltrasyonudur (96,110).

Koyunlarda mikoplazmalardan ileri gelen solunum sistemi infeksiyonlarında klinik ve otopsi bulguları genellikle spesifik değildir (48,50,). Ancak bir yaşın altındaki koyunlarda gözlenen solunum sistemine ait bulgular infeksiyon hakkında fikir verebilir olsa da hastalık Pulmoner Adenomatosis, Maedi, Pasteurellosis ve paraziter invazyonlar gibi infeksiyonlarla karışabilir. Pulmoner adenomatosis'in bir yaş ve üzeri koyunlarda, tek tük vakalar halinde görülmesiyle, Pasteurellosis' in ise tüm yaşlarda akut bulgular ve yüksek oranda ölümlerle seyretmesiyle ayırt edilebilir. Dictyocauliasis (Dictyocaulus flaria) lezyonlarının genellikle diaframatik lobun ventral kısımlarında ve sınırlı olmasıyla ayırt edilmektedir (136). Hastalığın kesin teşhisi ancak mikrobiyolojik ve diğer laboratuvar incelemeleriyle yapılır.

Mikoplazmaların neden olduğu infeksiyonlarda klinik ve patolojik bulgular hastalığı tanımlamada yeterli olmadığından dolayı kesin teşhis ya dokulardan etkenin izolasyonunu gerçekleştirerek direkt (40,43,81,112) yada etkene karşı oluşmuş antikorları saptayarak indirekt (25,41,96) olarak yapılmaktadır. Mikoplazmalar kuruluğa karşı çok duyarlı olduklarından dolayı, pnömonilerin teşhisi amacıyla alınan trakeal swap, akciğer sıvısı, mediastinal lenf yumrusu, bronşial yıkantı gibi numuneler buz kalıpları (46,136) veya transport mediuamlarda (136) laboratuvara iletilmelidir.

Hastalığın labaratuvar teşhisinde kullanılan yöntemler sırayla şunlardır. **Bakteriyoskopi** ; Şüpheli akciğer sıvısı, mediastinal lenf yumrusu gibi materyallerden hazırlanan preparatların Giemsa, Casteneda, Machievello gibi yöntemlerle boyanmasıyla, pleomorfik mikroorganizmaların görülmesi hastalık hakkında bilgi verebilirse de bakteriyoskopi ile teşhis koymak imkansızdır (15,79,91). **Kültür** ; mikoplazmaların kültivasyonu amacıyla yukarıda bildirilen şüpheli materyallerden içerisine aseptik şartlarda steril at serumu (%20), maya ekstraktı (%10), penisilin (500 IU/ml) ve talyum asetat (1/4000) katılmasıyla hazırlanan selektif katı ve sıvı besiyerlerine ekimler yapılır (41,77,,102). Ekimi yapılan ortamlar 37 C' de nemli ve %10 CO₂ ' li ortamda 3-5 gün ve daha fazla süreyle inkübe edilirler (19,52). İnkübasyon süresi sonunda katı besiyerlerinde üreyen koloniler stero mikroskop altında incelenerek küçük, tipik '' sahanda yumurta '' yada '' granüllü merkezsiz'' görünümlü koloniler değerlendirilirler. Bu tip koloniler agarla birlikte bir blok halinde alınarak selektif sıvı besiyerlerine ekilerek saf kültürleri elde edilir (37,70). Ayrıca katı besiyerlerinde üreyen bu kolonilerden Dienes yöntemine göre boyamalar yapılarak incelenirler (119). Bu amaçla boya solüsyonundan temiz bir lamel üzerine bir damla konarak kurutulur. Agardan kesilen üzerinde koloni bulunan blok, koloniler üstte kalacak tarzda lamele

yapıştırılır. Blok 30 dakika sonra kaldırılarak, lamel mikroskop altında incelenir. Sıvı besiyerlerinde üretilen saf kültürlerden de Giemsa metodu ile boyamalar yapılarak incelendiğinde (15) mikroskop altında pleomorfik mikroorganizmaların görülmesi mikoplazma infeksiyonundan şüphelendirir. Ancak üreyen kolonileri bakterilerin L form'larından ayırt etmek için inhibitörsüz besiyerlerine ekimleri yapılmalıdır (24,145). Bu şekilde izole edilen mikoplazma kolonilerinin identifikasyonu ; glikoz fermentasyonu (121,141), arjinin hidrolizi (21,49), fosfataz testi (33), tetrazolium redüksiyonu (129), film ve spot oluşumu (64), metilen mavisi redüksiyonu (96), hemoliz testi (86) ve üreme inhibisyon testi (44,145) gibi yöntemlerle yapılır. Mikoplazmaları Acheloplasma'lar dan ayırt etmek için dijitonine duyarlılık testi (57,139), Ureaplasma'lardan ayırt etmek için ise üreaz testinden (118,143) yararlanılmaktadır.

Mikoplazmaların neden olduğu infeksiyonların indirekt tanısında kanda oluşan antikorların tesbiti ve mikoplazmaların identifikasyonu amacıyla çeşitli serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır (7,11,13, 63,96).

İnfeksiyonu geçirmiş veya aşılanmış hayvanların kan serumlarında oluşan antikorları tesbit etmek ve mikoplazma türlerinin identifikasyonu amacıyla laboratuvarlarda en sık kullanılan testlerden biri olan

üreme inhibisyon testi (growth inhibition test-GIT) (41,86,142), standart suşlara karşı tavşanlardan elde edilen antiserumlar (7,96) ve test edilecek mikoplazma kültürüyle (81,145) katı ortamda yapılmakta (44,63) ve meydana gelen üreme inhibisyon zon çapının ölçülmesiyle değerlendirilmektedir (37,86).

Mikoplazmaların identifikasyonu amacıyla sıklıkla kullanılan diğer bir serolojik yöntem olan fluoresan antikor testi (FAT) (15,81), üreme inhibisyon testinden daha duyarlı fakat daha komplekstir. Test , sıvı kültür veya doku parçalarından hazırlanan sürme preparatlar ve katı besiyerinde üreyen tesbit edilmiş veya edilmemiş kolonilerle (69) direkt (102) ve indirekt (11) metotla yapılmaktadır. Testte, tavşanlarda hazırlanan ve amonyum sülfatla çöktürülen, fluoresan isotiosiyanatla işaretlenmiş gammaglobulinler kullanılmaktadır (11,37).

Mikoplazmal infeksiyonların teşhisinde ve epidemiyolojik çalışmalarda, ayrıca mikoplazmaların karakterizasyonunu belirleme ve klasifikasyonunda kullanılan metabolik inhibisyon testi (MIT) (7,52,63), sıvı ortamda spesifik antikorların, mikoplazmaların üremesini önlemesiyle besiyerinde pH değişimine bağlı olarak bir renk değişikliğinin oluşması esasına dayanmaktadır (81,125). Testte, fenol red, brom timol mavisi gibi indikatörler kullanılmaktadır (7).

İnfeksiyonun indirekt tanısında kullanılan ve oldukça duyarlı olan komplement fikzasyon testi (CFT) (41,142,) saha infeksiyonlarında, deneysel infeksiyonlarda ve aşılanmış hayvanlarda oluşan antikorları belirlemede ve mikoplazmaların identifikasyonunda kullanılmaktadır.

Son yıllarda geliştirilen ve infeksiyonun teşhisinde çok duyarlı olan enzyeme-linked immunosorbent assay (ELISA) (41,144) testinin, özellikle mikoplazmal infeksiyonların kontrolü amacıyla bir tarama testi olarak çok yararlı olduğu bildirilmiştir (153). Testte mikoplazmaların sıvı kültürlerinden hazırlanan purifiye antijen (144), konjugat olarak peroksidaz veya alkalın fosfataz enzimi ile işaretli (108) tavşanlarda hazırlanan anti-koyun IgG'leri, substrat olarak ise glutaraldehit veya fenilendiamin (42) kullanılmaktadır.

Hastalığın indirekt tanısında ayrıca değişik metodlarla uygulanan aglütinasyon testi (37,81), indirekt hemaglütinasyon testi (63), agar jel diffüzyon testi (13,86,96) gibi serolojik testler de kullanılmaktadır.

Koyunlarda mikoplazmalardan ileri gelen solunum sistemi infeksiyonlarında, izole edilen suşların antibiyotik duyarlılık testleri yapıldıktan sonra, duyarlı bulunan antibiyotiklerin kullanılmasıyla sağaltılabilmektedirler (31). Hastalığın tedavisinde etkili antibiyotiklerin tylosin ve tiamulin olduğu (97), tiamulin ve tylosinin birlikte 3 gün süreyle 10 mg/kg

dozda uygulanmasıyla lezyonların gerilediği bildirilmektedir (136). Arısoy ve ark. (17) koyun ve keçilerden izole ettikleri 15 mikoplazma suşunun in vitro olarak tylosin, eritromisin ve oksitetrasikline karşı duyarlılıklarını araştırdıkları bir çalışmada tylosinin diğerlerine göre daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Sarkar ve ark. (117) M.arginini veya M.m.subs.mycoides ile infekte olduğu tesbit edilen 15 oğlağa tylosin tartaratın oral olarak 40 mg/kg dozda 5 gün süreyle kullanılmasıyla 10'unun (%66.6) iyileştiğini, tylosinle iyileşmeyen 4 oğlağa 36 mg/kg dozda tiamulin verildiğinde 3'ünün iyileştiğini 1'inin öldüğünü bildirmişlerdir. Mikoplazmaların penisilin ve sulfonamidlere dirençli oldukları, tetrasiklin, gentamisin, kanamisin ve eritromisinin bazı infeksiyonlarda etkili olduğu bildirilmektedir (41). Kaya ve ark. (90) kuzu akciğerlerinden izole edilen mikoplazma suşu üzerinde Linco-spectin, eritromisin, ampisilin, trimethoprim + sulphamethaxazole , sefalosporin ile yaptıkları antibiyotik duyarlılık testinde en etkili antibiyotiklerin sırayla linco-spectin, ampisilin ve eritromisin olduğunu bildirmişlerdir.

Hastalıktan korunmak için M.ovipneumoniae' ye karşı henüz etkin bir aşı geliştirilememiştir (82,136). Hastalığın kontrolünde, iyi bir idarenin sağlanması (31), bulaşmanın azaltılması, hayvanların direncinin yükseltilmesi (96) hayvanların toz, amonyak gibi zehirli

gazlardan (18) ve solunum sistemi patojenlerinden korunması (136), barınaklarda iyi bir ventilasyon sağlanması (15) satın alınan hayvanların sürüye katılmadan önce bir süre ayrı tutulması temel esaslardır.

Bu çalışmada, Kars yöresinde koyun pnömonilerinden mikoplazmaların izolasyonu identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.



4. MATERİYAL VE METOT

Pnömonik Akciğer Örnekleri : Çalışmada, Ocak 1995 - Aralık 1995 tarihleri arasında Kars Belediye Mezbahası'nda kesilen 1354 koyuna ait akciğerlerin, makroskopik olarak incelenmesi sonucu pnömonik bulunan (verminöz pnömoni hariç) 120 (%8.86) adet koyun akciğeri ile Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonili koyun akciğeri olmak üzere toplam 247 adet akciğer örneği kullanıldı. Ayrıca, Kars Belediye Mezbahası'ndan elde edilen 30 sağlıklı koyun akciğeri de mikoplazma izolasyonu amacıyla değerlendirildi. Örneklerin herbiri ayrı bir plastik torba içerisinde ve kısa sürede laboratuvara getirilerek hemen değerlendirildi.

Standart suşlar : Araştırmada kullanılan *Mycoplasma ovipneumoniae* ve *M.arginini* standart suşları, Dr.Leyla GÜLER'den (Konya Hayvan Hastalıkları Araştırma Merkezi, KONYA) ve Dr.J.G.TULLY'den (Mycoplasma Section, Frederick, Canser, Res. Dev. Center, Frederick, USA) temin edildi.

Besiyerleri : Pnömonik akciğerlerden mikoplazmaların izolasyonu amacıyla PPLO Agar ve PPLO Broth (Difco), diğer bakterilerin izolasyonu için kanlı agar (%7 defibrine koyun kanlı, Blood Agar Base - Oxoid), Mac Conkey Agar (Oxoid) ve EMB Agar (Oxoid), Nutrient agar ve Broth (Oxoid) ile serumlu buyyon kullanıldı.

Antibiyotik Diskleri : Patolojik materyallerden izole edilen mikoplazma suşlarının antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesinde Enrofloxacin 5 mcg (Bayer), Danofloxacin 5 mcg (Difco), Ampicilline 10 mcg (Oxoid), Streptomycine 10 mcg, Oxytetracycline 30 mcg ve Erithromycine 15 mcg (Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü) disklerinden yararlanıldı.

Antijen hazırlanması : Çalışmada kullanılan standart suşlardan antijen hazırlanmasında Senterfit (70) in bildirdiği yöntem kullanıldı. Bu amaçla standart suşlar PPLO katı besiyerinde üretildikten sonra tek koloni alınarak 500-1000 ml PPLO sıvı besiyerine ekildi ve kültürün logaritmik fazın sonunu aşmamasına dikkat edilerek 37 C'de 48-72 saat inkübe edildi. Daha sonra kültür 10.000 g de 60 dakika santrifüje edildikten sonra üst kısım atılıp dipteki tortu PBS ile üç kez yıkayıp 1/100 oranında sulandırılarak antijen hazırlandı. Antijen kullanılıncaya kadar -20 C'de saklandı.

Antiserum elde edilmesi : Bu amaçla Senterfit (130) in bildirdiği yöntem kullanıldı. Erzurum Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen 1 yaşlı , 2 kilogram ağırlığında, Yeni Zelanda ırkı erkek 2 tavşana, hazırlanan antijenler incomplete Freundt Adjuvanı (Difco) ile eşit oranda karıştırılarak ilk gün 0.5'er ml 4 farklı bölgeye kas içi ve yine 4 farklı bölgeye 0.2'şer ml deri içi enjekte edildi. İlk enjeksiyonu takiben yirmibirinci günde yine adjuvanlı antijen 0.5'er ml 4

farklı bölgeye kas içi enjekte edildi. Kırkıncı günde ise son kez adjuvansız antijen 0.5 ml damar içi enjekte edildikten 10 gün sonra tavşanlardan kan alınarak serumları çıkarıldı.

Antiserum disklerinin hazırlanması : Disklerin hazırlanmasında Clyde (44) ın bildirdiği yöntem kullanıldı. Tavşanlardan elde edilen immün serumlar 0.2 μ m'lik milipor filtrelerle sterilize edilerek 6 mm çapındaki Whatman (No:40) filtre kağıdından hazırlanan disklere emdirilerek kurutuldu. Üreme inhibisyon testinde kullanılan bu diskler +4 C'de saklandı.

Taze maya ekstraktının hazırlanması : Yeast extract (Difco) 25 gr alınarak 100 ml distile suda çözdürüldü. Maya ekstraktı 0.2 μ m'lik milipor filtrelerden geçirilerek sterilize edildikten sonra 10'ar ml olarak steril şişelere taksim edildi. En çok 4 ay süreyle kullanılmak üzere -20 C' de saklandı (81).

At serumunun hazırlanması : Elde edilen at serumu su banyosunda 56 C' de 30 dakika tutularak inaktive edildi (81). İnaktive edilen serum 0.2 μ m' lik milipor filtrelerden geçirilerek sterilize edildikten sonra 20 ml'lik steril şişelere bölünerek -20 C'de saklandı (97).

Talyum asetat solüsyonunun hazırlanması : Bir gram thallium asetat 80 ml distile suyla, kaynayan su içerisinde çözüldürülerek 2 ml'lik şişelere bölünüp 121

C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilerek + 4 C'de saklandı (97).

Besiyerlerinin hazırlanması : Mikoplazmaları üretmek amacıyla 1000 ml katıbesiyeri hazırlamak için 35 gr PPLO Agar (Difco) tartılarak 680 ml distile su içerisinde çözdürüldü. Süspansiyon homojen hale gelene kadar ısıtıldıktan sonra 121 C' de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi. Daha sonra besiyerine aseptik şartlarda, steril at serumu 200 ml, steril taze maya ekstraktı 100 ml, penisilin G 500 IU / ml, talyum asetat (1/80) 20 ml miktarlarında ilave edilip pH 7.6 - 7.8'e ayarlanarak 9 cm çapında petri kutularına döküldü.

Mikoplazma sıvı besiyeri hazırlamak amacıyla PPLO Broth (Difco) 2.1 gr 70 ml distile suda çözdürülerek otoklavda 121 C' de 15 dakika süreyle steril edildi. Besiyerine aseptik şartlarda steril at serumu 20 ml, taze yeast extract 10 ml, penisilin G 500 IU/ml, thallium asetat (1/4000) 2 ml aseptik şartlarda katılarak pH 7.6 - 7.8'e ayarlanıp steril tüplere 5'er ml miktarında taksim edildi.

Mikoplazmalar dışındaki diğer bakterilerin izolasyonu amacıyla kullanılan katı ve sıvı besiyerleri, bilinen rutin yöntemlerle hazırlandı.

Ekimler ve izolasyon çalışmaları : Pnömonik akciğerlerden bir parça (1 gram) alınarak steril havanda, steril kum yardımıyla 5 ml sıvı besiyerinde (PPLO buyyon) iyice ezilerek süspansiyon hale getirildi. Hazırlanan bu

süspansiyondan 0.1 ml alınarak PPLO katı ve sıvı besiyerine ve ayrıca kanlı agara ekimleri yapıldı. Ekim yapılan mikoplazma besiyerleri 2.5 litrelik jarlarda (Merck), nemli ve mikroaerofilik ortamda (Anaerocult C, Merck) 37 C'de 5 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda katı besiyerleri, stereo mikroskop altında koloni gelişimi, sıvı besiyerleri ise bulanıklık açısından incelendi. Saf kültür elde etmek amacıyla, üreme görülen katı besiyerlerinden, stereo mikroskop altında tek koloni alınarak PPLO katı ve sıvı besiyerlerine subkültürleri yapıldı. Üremelerde bakterilerin 'L formu' şüphesini ortadan kaldırmak amacıyla üreyen kolonilerden inhibitörsüz katı besiyerine ve kanlı agara pasajları yapıldı. Üreme görülmeyen katı besiyerleri negatif kabul edilmeden önce 7 gün süreyle daha inkübe edildiler. Mikoplazmalar dışındaki bakterilerin izolasyonları amacıyla ekimi yapılan kanlı agarlar, 37 C'de 24-48 saat süreyle aerobik ortamda inkübe edilerek değerlendirildiler.

İdentifikasyon çalışmaları : İzole edilen mikoplazma suşların identifikasyonu amacıyla dijitonine duyarlılık, glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu ,hemoliz ve fosfataz testi ile üreme inhibisyon testinden yararlanıldı.

Dijitonine duyarlılık : Bu test, Tully (139) nin bildirdiği metoda göre yapıldı. Bu amaçla 30 mg dijitonin

2 ml %95'lik etil alkol içerisinde çözdürülerek %1,5'lik dijitonin solüsyonu hazırlandı. Solüsyon, Whatman (No:40) filtre kağıdından hazırlanan 6 mm çapındaki disklere her bir diske 0.025 ml dijitonin olacak şekilde emdirildi. 37 C' de kurutulan diskler + 4 C'de saklandı. İzole edilen suşların 1/100 dilüsyonlarından 0.1 ml katıbesiyeri yüzeyine bir baget yardımıyla yayılarak etüvde besiyerinin yüzeyi kurutulduktan sonra üzerine steril bir pens yardımıyla dijitonin diski hafifçe bastırılarak konuldu. Petriler, nemli ve %10 CO₂'li (Anaerocult C, Merck) ortamda 37 C'de 5 gün süreyle inkübe edildikten sonra disk etrafında oluşan inhibisyon alanı ölçülerek değerlendirildi. Değerlendirmede disk etrafında oluşan 4 mm ve daha geniş inhibisyon alanı pozitif olarak kabul edildi.

Glikoz fermentasyonu : Bu test, Razin ve Cirillo (121) nun bildirdiği yönteme göre yapıldı. Hazırlanan %10 glikoz solüsyonundan 5 ml'lik PPLO buyyonlara 0.5 ml ilave edilerek %1 glikoz içeren sıvı besiyerleri oluşturuldu. Hazırlanan besiyerine test edilecek kültürden 0.1 ml inoküle edilip, üzerine %0.002 oranında fenol red katılarak ekim yapılmayan bir kontrol tüpü ile birlikte 37 C' de, nemli ve %10 CO₂'li (Anaerocult C, Merck) ortamda 5 gün süreyle inkübe edildi. Besiyerinin renginin besiyeri pH'sının 7'nin altına düşmesi nedeniyle kırmızıdan sarıya dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi.

Arginin hidrolizi : Bu test Barile (21) nin bildirdiği yönteme göre yapıldı. Bunun için %2'lik Arginin solüsyonundan 5 ml'lik PPLO buyyonlara 0.01 ml ilave edilerek %0.2 arginin içeren ve pH'sı 7 olan sıvı besiyerleri hazırlandı. Test edilecek kültürden hazırlanan besiyerine 0.1 ml ekim yapıldıktan sonra %0.002 oranında fenol red ilave edilerek ekim yapılmayan bir kontrol tüpüyle birlikte 37 C de nemli ve %10 CO₂ 'li ortamda 5 gün süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda ekim yapılan besiyerinin renginin pembe yada kırmızıya dönüşmesi kontrol tüpünde ise renk değişikliğinin olmaması pozitif olarak değerlendirildi.

Tetrazolium redüksiyonu : Steril 2,3,5-triphenyltetrazolium chlorid'in %0.02 oranında katılmasıyla hazırlanan PPLO buyyonlara, test edilecek kültürden 0.1 ml ekilerek ekim yapılmayan bir kontrol tüpü ile birlikte 37 C de 5 gün süreyle inkübe edildiler. Besiyerinin renginin pembe kırmızıya dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi (129).

Film ve spot oluşumu : PPLO buyyon ve agara ekimi yapılan suşların 37 C'de, nemli ve mikroaerofilik ortamda 7 gün süreyle inkübasyonu sonucu, buyyonun üst kısmında ince bir tabakanın (film), agarda ise siyah beneklerin (spot) oluşması pozitif olarak, oluşmaması ise negatif olarak değerlendirildi (144).

Fosfataz testi : Steril Phenolftalein diphosphat'tan %0.1 oranında katılarak hazırlanan katı

besiyerine izole edilen suşların ekimi yapılarak 37 C, nemli ve mikroaerofilik ortamda 5 gün inkübe edildi. Bu süre sonunda oluşan kolonilerin üzerine 5 N NaOH dökülerek yarım dakika içerisinde kırmızı rengin oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (33).

Hemoliz testi : İzole edilen suşların hemoliz yapma yeteneklerini belirlemek amacıyla, %7 koyun kanlı PPLO agara ekimleri yapılarak, besiyeri nemli ve mikroaerofilik ortamda 5 gün süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda besiyerinde hemoliz oluşup oluşmadığı gözlemlendi (28).

Üreme inhibisyon testi : Bu test, Clyde (44) ın bildirdiği yöntemle yapıldı. Bu amaçla test edilecek kültürün ⁻² 10 dilüsyonundan 0.1 ml alınarak PPLO katı besiyerine bir baget yardımıyla silme ekimi yapıldı. Besiyeri 37 C'de 20 dakika kurutulduktan sonra üzerine standart antijenden hazırlanan immün serum diskleri konuldu. Besiyerleri 37 C'de, nemli ve mikroaerofilik ortamda 5 gün süreyle inkübe edildikten sonra disk etrafında oluşan 2 mm ve daha fazla olan inhibisyon alanı pozitif olarak değerlendirildi.

Antibiyotik duyarlılık testi : Patolojik materyallerden izole ve identifiye edilen mikoplazma suşlarının antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesinde Kirby-Bauer (23) disk diffüzyon yöntemi kullanıldı. Test edilecek kültürden 0.1 ml alınarak steril bir baget yardımıyla PPLO Agar yüzeyine silme

ekimi yapıldı. Besiyerinin yüzeyi etüvde 15 dakika kurutularak üzerine antibiyotik diskleri steril bir pensle hafifçe bastırılarak konuldu. Besiyeri nemli ve mikroaerofilik ortamda 37 C'de 5 gün süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda diskler etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirildi.

Diğer bakterilerin identifikasyonu : Patolojik materyallerden mikoplazmalar dışında izole edilen diğer bakterilerin identifikasyonları, koloni morfolojisi, mikroskopik görünüm, karbonhidrat fermentasyon testleri, hareket muayenesi, hemoliz, oksidaz, katalaz, koagülaz testi gibi rutin yöntemlerle yapıldı (12,30).

5. BULGULAR

Mikoplazmaların İzolasyon ve İdentifikasyonu

Kars Belediye Mezbahası'nda kesilen, 1354 koyuna ait akciğerlerin makroskopik olarak incelenmesi sonucu pnömonik bulunan (verminöz pnömoni hariç), 120 (%886) pnömonik koyun akciğerinin 19'undan (%15.83), Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonik koyun akciğerinin 42'sinden (%33) olmak üzere, toplam 247 pnömonik koyun akciğerinden 61 (%24.69) mikoplazma suşu izole edildi (Tablo-1). İzole edilen 61 mikoplazma suşunun, biyokimyasal testler ve üreme inhibisyon testiyle yapılan identifikasyonlarında, 43'ünün (%70.5) M.arginini, 18'inin (%29.5) M.ovipneumoniae olduğu saptandı. Kars Belediye Mezbahası'ndan temin edilen 30 sağlıklı koyun akciğerinden mikoplazma suşu izole edilemedi.

Kars Belediyesi Mezbahası'ndan alınan 120 adet pnömonik koyun akciğerinden izole edilen 19 (%15.83) mikoplazma suşu koloni morfolojisi, glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, fosfataz, hemoliz testi gibi biyokimyasal testler ve üreme inhibisyon testleri ile 13'ü (%68.42) M.arginini, 6'sı (31.57) M.ovipneumoniae olarak identifiye edildi. Labaratuvara teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonik koyun akciğerinden izole edilen 42 mikoplazma suşunun yukarıda bildirilen testler yardımıyla yapılan identifikasyon

çalışmalarında 30'u (%71.42) M.arginini, 12'si ise (%28.57) M.ovipneumoniae olarak tanımlanmıştır.

Kars Belediye Mezbahası'ndan elde edilen 120 pnömonik koyun akciğerinin 11'inden (%9.16) mikoplazmalar tek başına izole edilirken 8'inden (%6.66) diğer bakterilerle birlikte izole edildi. Laboratuvara teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonik koyun akciğerinin 24'ünden (%18.89) mikoplazma tek başına izole edilirken, 18'inden (%14.17) ise diğer bakterilerle birlikte izole edildi (Tablo-1). Ayrıca pnömonikli 3 koyun akciğerinde M.ovipneumoniae ve M.arginini birlikte bulundu (Resim-1).

Tablo-1. Çalışmada kullanılan akciğer örneklerinin kaynağı, sayısı ile izole edilen etken sayıları ve izolasyon oranı.

	Pnömonik akciğer örnek sayısı	Mikoplazma izole edilen örnek sayısı	Bakteri izole edilen örnek sayısı	Miks infeksiyon sayısı	Etken izole edilemeyen örnek sayısı
Kars Belediye Mezbahası	120	11 (%9.16)	15 (%12.5)	8 (%6.66)	86 (%71.66)
KAÜ.Vet.Fak Mikrobiyoloji ABD.	127	24 (%18.89)	30 (%23.62)	18(%14.17)	55 (%43.3)
TOPLAM	247	35 (%14.17)	45 (%18.21)	26 (%10.52)	141 (%57)

Koloni Morfolojisi : İzole edilen mikoplazma suşlarının PPLO agarda oluşturdukları kolonilerin stereo mikroskop altında X40 büyütme ile yapılan incelemeleri sonucu, kolonilerin merkezli, kenarları düzgün "fried egg" diye tanımlanan sahanda yumurta tarzında ve

merkezsiz, granüler, kenarları düzensiz bir şekilde olmak üzere iki farklı tipte olduğu görüldü. Yapılan identifikasyon çalışmaları sonucunda tipik, merkezli görünümlü kolonilerin M.arginini (Resim-2), merkezsiz, granüler tipteki kolonilerin ise M.ovipneumoniae (Resim-3) olduğu belirlendi.

Biyokimyasal test sonuçları

Dijitonine duyarlılık testi : Pnömonik akciğerlerden izole edilen mikoplazma suşları ile yapılan dijitonine duyarlılık testinde tüm mikoplazma suşlarının pozitif olduğu, dijitonin diski etrafında meydana gelen üreme inhibisyon zonunun 4-7 mm arasında değiştiği saptandı.

Glikoz fermentasyonu : İzole edilen mikoplazma suşları ile PPLO buyyonda yapılan glikoz fermentasyonu testinde, M.ovipneumoniae suşlarının pozitif, M.arginini suşlarının ise negatif olduğu belirlendi.

Arjinin hidrolizi : Pnömonik akciğerlerden izole edilen mikoplazma suşlarının PPLO buyyonda yapılan arjinin hidrolizi testinde, M.arginini suşlarının pozitif reaksiyon verdiği, M.ovipneumoniae suşlarının ise negatif olduğu görüldü.

Tetrazolium redüksiyonu : İzole edilen mikoplazma suşlarının PPLO buyyonda yapılan tetrazolium redüksiyonu testi sonuçlarına göre M.ovipneumoniae suşları pozitif, M.arginini suşları negatif olarak değerlendirildi.

Film ve spot oluşumu : Değerlendirilen tüm mikoplazma suşlarının PPLO buyyon ve agarda film ve spot oluşumu negatif olarak gözlemlendi.

Fosfataz testi : İzole edilen mikoplazma suşlarının PPLO agarda yapılan fosfataz testi yoklamalarında tüm suşların negatif olduğu belirlendi.

Hemoliz testi : İzole edilen mikoplazma suşlarının %7 koyun kanlı PPLO agarda yapılan hemoliz testinde, *M.ovipneumoniae* suşlarının hemoliz oluşturduğu, *M.arginini* suşlarının ise hemoliz yapmadığı saptandı.

Üreme inhibisyon testi : İzole edilen *M.arginini* ve *M.ovipneumoniae* suşlarının PPLO agarda yapılan üreme inhibisyon testinde, standart antijenlere karşı tavşanlarda elde edilen hiperimmün serumlarla inhibe oldukları saptandı. Disk etrafında meydana gelen üreme inhibisyon zonunun 2-6 mm arasında değiştiği belirlendi.

İzole edilen mikoplazma suşlarının belirlenen biyokimyasal özellikleri Tablo-2'de gösterilmiştir.

Tablo-2. Çalışmada izole edilen mikoplazma suşlarının biyokimyasal test sonuçları.

	G	A	T	F/S	F	H
<i>M.arginini</i>	-	+	-	-	-	-
<i>M.ovipneumoniae</i>	+	-	+	-	-	+

G : Glikoz fermentasyonu A : Arjinin hidrolizi T : Tetrazolium Redüksiyonu

F/S : Film ve Spot oluşumu F : Fosfataz reaksiyonu H : Hemoliz testi

Antibiyotik duyarlılık testi : Pnömonik akciğerlerden izole edilen 43 M.arginini suşunun Kirby-Bauer disk diffuzyon metodu ile yapılan antibiyotik duyarlılık testinde, 42'sinin (%97.66) enrofloksasine, 40'ınının (%93.02) danofloksasine, 40'ınının (%93.02) oksitetrasikline, 39'unun (%90.69) ampisiline, 7'sinin (%16.27) eritromisine duyarlı, tüm suşların streptomisine dirençli olduğu saptandı. Pnömonik akciğerlerden izole edilen 18 M.ovipneumoniae suşunun ise 18'i (%100) enrofloksasine, 17'sinin (%94.44) oksitetrasikline, 16'sı (%88.88) danofloksasine, 16'sı (%88.88) ampisiline, 2'si (%11.11) eritromisine duyarlı, tüm suşlar streptomisine dirençli bulundu (Tablo-3).

Tablo-3. İzole edilen M.arginini ve M.ovipneumoniae suşlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

SUŞLAR	A		Dn		E		Er		O		S	
	D	R (%D)	D	R (%D)	D	R (%D)	D	R (%D)	D	R (%D)	D	R (%D)
M.arginini (43)*	39	4 90.69	40	3 93.02	42	1 97.67	7	36 16.27	40	3 93.02	0	43 0
M.ovipneumoniae (18)*	16	2 88.88	16	2 88.88	18	0 100	2	16 11.11	17	1 94.44	0	18 0

* : Suş sayısı D : Duyarlı suş sayısı R : Rezistans suş sayısı % D : Duyarlılık oranı

A : Ampisilin Dn : Danofloksasin E : Enrofloksasin Er : Eritromisin

O : Oksitetrasiklin S : Streptomisin

Diğer bakterilerin izolasyon ve identifikasyon sonuçları

Kars Belediye Mezbahası'ndan elde edilen 120 adet pnömonili koyun akciğerinin 23'ünden (%19.16), laboratuvara teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonik

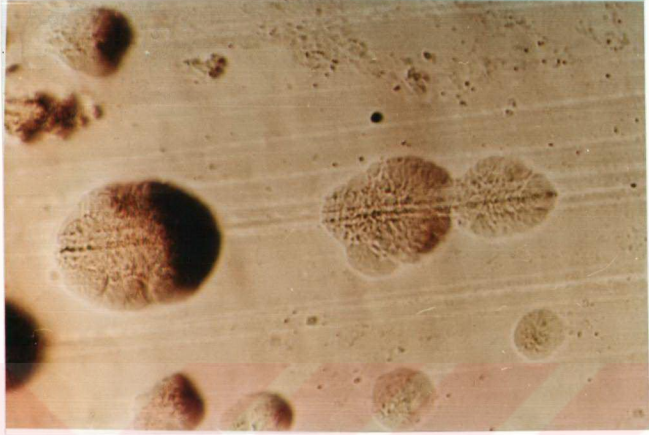
koyun akciğerinin ise 48'inden (%37.79) başta *P.haemolytica* olmak üzere *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *B.anthraxis*, *E.coli* gibi bakteriler izole edildi. Mikoplazma dışında diğer bakterilerin izolasyonuna ilişkin yapılan çalışmalarda Kars Belediye Mezbahası'ndan elde edilen 120 pnömonik koyun akciğerinin 23'ünden (%19.16) izole edilen toplam 27 bakteri suşunun koloni morfolojisi, mikroskopik görünüm, karbonhidrat fermentasyon testleri, hareket, hemoliz, oksidaz, katalaz testi gibi rutin yöntemlerle 17'si (%62.96) *P.haemolytica*, 5'i (%18.51) *Staphylococcus* spp., 3'ü (%11.11) *Streptococcus* spp., 2'si (%7.4) *E.coli* olarak tanımlanmıştır. Laboratuvara teşhis amacıyla getirilen 127 pnömonik koyun akciğerinin 48 'inden izole edilen toplam 54 bakteri suşunun, yukarıda belirtilen yöntemlerle 39'u (%72.22) *P.haemolytica*, 6'sı (%11.11) *Staphylococcus* sp., 4'ü (%7.4) *B.anthraxis*, 3'ü (%5.55) *E.coli*, 2'si (%1.08) *Streptococcus* sp., olarak tanımlanmıştır.



Resim-1. Pnömonili akciğer örneğinden birlikte izole edilen *M. arginini* ve *M. ovipneumoniae* kolonilerinin görünümü (X40).



Resim-2. İzole edilen *M. arginini* suşlarının PLO agarda oluşturdukları " fried egg " diye tanımlanan merkezli kolonileri (X 40).



Resim-3. İzole edilen *M. ovipneumoniae* suşlarının PPLO agarda oluşturdukları merkez-siz, granüler, kenarları düzensiz kolonilerin görünümü (X40 büyütme)

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Koyunlarda gözlenen ve akut pastörellozisten ayrı olarak ele alınan atipik pnömoni; daha çok kuzuları, nadiren de erişkin koyunları etkileyen kronik, çoğunlukla subklinik seyirli, mortalitesi düşük bir infeksiyondur. İnfeksiyon polifaktöriyel bir etiyolojiye sahip olup, infeksiyonun oluşmasında predispoze faktörlerin rolü büyüktür. Hastalık öksürük, mukoprulent bir burun akıntısı, depresyon, iştahsızlık, solunum sayısında artış ve solunum güçlüğü gibi bulgularla belirmekte, verim düşüklüğü, tedavi masrafları ve ölümlere neden olarak önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Koyun pnömonilerinden mikoplazmaların ilk izolasyonunun 1955 yılında Greig (71) tarafından Kanada'da bildirilmesinden sonra, birçok araştırmacı (19,43,56,102,113,) tarafından dünyanın çeşitli ülkelerinde yapılan çalışmalarla, koyun pnömonilerinden mikoplazmaların primer yada sekonder etken olarak izolasyonlarının yapıldığı rapor edilmiştir (7,19,20,135). Hastalığın tanımı ise ilk kez 1963 yılında patolojik bulgular esas alınarak Nisbet ve Stamp (132) tarafından yapılmıştır. Koyunlarda gözlenen mikoplazmal pnömonilerin tanısı, patolojik materyallerden etken izolasyonu (19,113,135) ve kanda oluşan antikörlerin tesbiti ile serolojik olarak (11,41) yapılmaktadır.

Mikoplazmal infeksiyonların direkt tanısı amacıyla, patolojik materyallerden etken izolasyonu için

PPLO agar ve broth (43,62,102,135), Vianda Foie (VF) agar ve broth (13,28), Modifiye Hayflick besiyeri (72), FM 4 (19,77), Tryptose agar ve broth (96) ve Mycoplasma agar ve broth (84,113,137) gibi katı ve sıvı besiyerleri kullanılmaktadır. Birçok araştırmacı (19,66,77,137) pnömonik akciğerlerden mikoplazmaların izolasyon olasılığını artırmak amacıyla, akciğerlerin iyice ezilmesiyle hazırlanan homojenatlardan yapılan ekimlerden iyi sonuçlar alındığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada pnömonik koyun akciğerlerinden mikoplazmaları izole etmek amacıyla PPLO agar ve broth besiyeri kullanıldı. Mikoplazmaların üremelerini sağlamak için besiyerlerine %20 oranında steril at serumu, %10 oranında maya ekstraktı, diğer bakterilerin üremelerini önlemek için ise 500 IU/ml penisilin ve 1/4000 oranında talyum asetat ilave edildi. Çalışmada elde edilen akciğer örneklerinin ekimleri, lezyonlu kısımlardan alınan 1 gram parçaların steril havanda steril kum yardımıyla 5 ml PPLO buyyonda, iyice homojenize edilmesiyle hazırlanan süspansiyondan 0.1 ml alınarak yapıldı.

Çeşitli araştırmacılar tarafından (19,57,78,133) pnömonik akciğerlerden izole edilen mikoplazma suşlarının, merkezli ve merkezsiz olmak üzere iki farklı tipte koloni oluşturduğu bildirilmektedir. St George (133) pnömonik koyun akciğerlerinden izole edilen mikoplazma suşlarının, katı besiyerinde 2 farklı tipte koloni oluşturduğunu, St George ve Carmichael (134)

pnömonik akciğerlerden izole edilen *M.ovipneumoniae* suşlarının katı besiyerinde merkezlessiz, *M.arginini* suşlarının ise merkezli koloni oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, pnömonik akciğerlerden izole edilen *M.arginini* suşlarının katı besiyerinde merkezli, kenarları düzgün, tipik "fried egg" diye tanımlanan bir şekilde, *M.ovipneumoniae* suşlarının ise merkezlessiz, granüler, kenarları düzensiz bir şekilde koloni meydana getirdikleri gözlemlendi.

Mikoplazmaların tanımlanması amacıyla laboratuvarlarda kullanılan en önemli biyokimyasal testler glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, fosfataz ve hemoliz testidir (7,68,121). Bazı araştırmacılar (44,142) biyokimyasal test sonuçlarının son derece spesifik ve kolay uygulanabilir olan üreme inhibisyon ve metabolik inhibisyon testi gibi serolojik testlerle de desteklenmesinin yararlı olacağını öne sürmektedirler.

Bu çalışmada pnömonik akciğerlerden izole edilen mikoplazma suşları glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, fosfataz ve hemoliz testleriyle tanımlanmışlardır. Ayrıca izole edilen suşların tanımlanmaları, standart suşlarla hazırlanan antiserumlarla yapılan üreme inhibisyon testiyle de serolojik olarak doğrulandı.

Koyun pnömonilerinin etiyolojilerine yönelik olarak gerek yurdumuzda (5,57,72,90) gerekse diğer ülkelerde (11,19,77,82,106) yapılan birçok araştırmada pnömonik koyun akciğerlerinden mikoplazmaların tek başına (7,115,137) yada diğer bakteriler ile birlikte (19,43,70,102,135) izole edildikleri bildirilmektedir. St George (133) Avustralya'da koyunlarda yaz pnömonisi olarak adlandırılan vakaların etiyolojisini tesbit etmek amacıyla yaptığı çalışmada 66 pnömonik koyun akciğerinin 37'sinden (%56) mikoplazma sp., 29'undan (%43.93) Pasteurella sp., Neisseria sp. ve C.pyogenes gibi bakterilerin izole edildiğini, izole edilen mikoplazma suşlarının merkezli ve merkezsiz olmak üzere iki farklı tipte koloni oluşturduğunu belirtmiştir. Pasic (112) Yugoslavya'da yaptığı bir araştırmada 77 pnömonili koyun akciğerinin 51'inden (%66.2) mikoplazma izole etmiş, izole edilen suşların 35'inin (%69) M.ovipneumoniae, 14'ünün (%27) M.arginini ve 2'sinin (%4) A.laidlawii olduğunu bildirmiştir. Tabatabayi ve ark. (135) subakut ve kronik pnömonili 62 koyun akciğerinin 49'undan (%79), sağlıklı koyun akciğerlerinden ise %6.5 oranında M.arginini izole ettiklerini, ayrıca pnömonik akciğerlerden P.multocida, P.haemolytica, Streptococcus sp., Corynebacterium sp. gibi bakterilerin de izole edildiğini açıklamışlardır. Popovic ve ark. (115), pnömonik 32 kuzu akciğerinin 26'sından (%81), pnömonik 45 koyun akciğerinin ise 25'inden (%56) mikoplazma suşu

izole etmişlerdir. Bakke ve ark. (19) subakut ve kronik pnömonili koyunlara ait 126 akciğerden 109 (%87), sağlıklı 83 akciğerden ise 5 (%6) *M.ovipneumoniae* suşu izole ettiklerini, *P.haemolytica*'nın daha düşük oranda ve genellikle *M.ovipneumoniae* ile birlikte izole edildiğini, Gharogzlou ve ark. (70) 88 pnömonik koyun akciğerinin 56'sından (%63.63) *M.arginini* izole ettiklerini ve bunların 34'ünün *P.haemolytica* gibi diğer bakterilerle birlikte bulunduğunu bildirmişlerdir. Aksoy (5) 118 pnömonik koyun akciğerinin 26'sından (%22.03) mikoplazma suşu izole edildiğini, izole edilen suşların 20'sinin *M.arginini* olarak identifiye edildiğini, mikoplazma suşlarının %21.4 oranında diğer bakteriler, %9.8 oranında viruslar, %6.25 oranında ise parazitlerle birlikte izole edildiğini belirtmiştir. Baysal ve Güler (24) bir yaşından küçük 186 kuzu ve oğlağa ait (162 kuzu, 24 oğlak) lezyonlu akciğer ve mediastinal lenf yumrularından yapılan bakteriyolojik yoklamalar sonucunda 147 (%79.03) hayvandan 222 bakteri suşu izole etmişlerdir. İzole edilen bakteri suşlarının %28.82'si *E.coli*, %21.62'si *P.haemolytica*, %18.46'sinin *Mycoplasma* spp., %10.81'inin *Streptococcus* spp., %6.30'unun *Staphylococcus* spp., %5.40'inin *C.pyogenes*, %3.60'inin *K.pneumoniae*, %3.60'inin *Ps.aeroginosa* ve %1.35'inin *Neisseria* spp. olduğunu, izole edilen 41 mikoplazma suşunun 11'inin (%26.82) tek başına, 30'unun da (%73.17) diğer etkenlerle birlikte bulunduğunu, fakat suşlarının

tür düzeyinde identifikasyonlarının yapılmadığını bildirmişlerdir. Türkarlan (144) 83 pnömonik koyun ve kuzu akciğerinin 17'sinden (%20.48) *M.ovipneumoniae* izole etmiştir. Güler (72) 145 kuzu, 59 koyun, 6 oğlak ve 5 keçi akciğeri olmak üzere 215 pnömonili akciğer materyalinden 91 (%62.75) mikoplazma suşu izole etmiş izole edilen suşların koloni morfolojileri, biyokimyasal testler ve üreme inhibisyon testi ile 66'sının (%72.5) *M.arginini*, 23'ünün (%25.3) *M.ovipneumoniae*, 1'inin (%1.09) *M.mycoides subs.capri* ve 1'inin (%1.09) *M.agalactiae* olduğunu belirlemiştir. Araştırmacı 59 pnömonik koyun akciğerinin 12'sinden (%20.33) mikoplazma suşu ayrıldığını bu suşların 10'unun (%83.33) *M.arginini*, 1'inin (%8.33) *M.ovipneumoniae*, 1'inin (%8.33) *M.agalactiae* olarak identifiye edildiğini, tüm materyallerden izole edilen 23 *M.ovipneumoniae* suşunun 7'sinin (%30.43), 66 *M.arginini* suşunun da 23'ünün (%34.84) tek başına, geri kalanının ise *P.haemolytica* ve/veya diğer etkenlerle birlikte bulunduğunu bildirmiştir.

Yapılan bu çalışmada, Ocak 1995-Aralık 1995 tarihleri arasında Kars Belediye Mezbahası'nda kesilen 1354 koyuna ait akciğerlerin makroskobik olarak incelenmesi sonucu, pnömonik bulunan 120 adet koyun akciğeri ile Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonik koyun akciğeri olmak üzere toplam 247 adet akciğer örneği değerlendirildi.

Toplam 247 adet pnömonik koyun akciğerinin 61'inden (%24.69) mikoplazma suşu izole edildi. Elde edilen bu izolasyon oranı, yurdumuzda yapılan çalışmalarla (5,72,144,) uyum göstermekte iken, diğer ülkelerde yapılan araştırmalarda (70,112,115,133) pnömonik koyun akciğerlerinden daha yüksek oranda mikoplazma izole edilmesi atipik pnömoninin o ülke şartlarında daha yaygın olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada pnömonik akciğerlerden izole edilen 61 mikoplazma suşunun koloni morfolojisi, glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, fosfataz, hemoliz, ve üreme inhibisyon testi ile 43'ü (%70.5) M.arginini, 18'i (%29.5) M.ovipneumoniae olarak tanımlanmıştır. Pnömonik koyun akciğerlerinden izole edilen 61 mikoplazma suşunun 35'i (%57.37) tek başına, 26'sı (%42.62) diğer bakterilerle birlikte bulundu. Mikoplazma dışındaki diğer bakterilerin izolasyonu amacıyla yapılan çalışmalar sonucu, 247 pnömonik koyun akciğerinin 71'inden (%28.74) toplam 81 bakteri suşu izole edildi. İzole edilen 81 bakteri suşu koloni morfolojisi, mikroskopik görünüm, karbonhidrat fermentasyon testleri, hareket, hemoliz, oksidaz, katalaz testi gibi rutin yöntemlerle 56'sı (%69.13) P.haemolytica, 11'i (%13.58) Staphylococcus sp., 5'i (%6.17) Streptococcus sp., 5'i (%6.17) E.coli, 4'ü (%4.93) B.anthraxis olarak tanımlanmıştır. Çalışmada değerlendirilen 247 pnömonik koyun akciğerinin 141 (%57)

inden bakteriyel etken tesbit edilememiştir. Bu nedenle pnömoni olgularının etiyojisinin araştırılmasında bakteriyolojik incelemelerin yanısıra virolojik, mikolojik ve parazitolojik yoklamaların birlikte yürütülmesi daha yararlı olacaktır.

Çeşitli araştırmacılar (19,70,72,113,133) *P.haemolytica*'nın da koyun pnömonilerinde önemli bir etken olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada pnömonik koyun akciğerlerinden mikoplazmaların dışında en fazla *P.haemolytica* (%22.68) izole edilirken, daha sonra sırasıyla *Saphylococcus* spp. (%4.45), *Streptococcus* spp. (%2.02), *E.coli* (%2.02) ve *B.anthraxis* (%1.61) izole edildi.

Mikoplazma suşlarının *in vitro* olarak antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla birçok araştırma (47,72,87,88,90,) yapılmıştır. Quinlan ve ark. (116) 40 *M.ovipneumoniae* suşu ile sıvı ortamda yaptıkları antibiyotik duyarlılık testinde sırayla tylosin, oksitetrasiklin, novobiocin ve kloramfanikole duyarlı olduğunu, Jones ve ark. (53) ise 9 *M.ovipneumoniae* suşu ile yaptıkları antibiyogram sonucunda, suşların klortetrasiklin, oksitetrasiklin, tylosin, kanamisin ve gentamisine duyarlı, streptomisin, polimiksin B ve nistatine dirençli bulunduğunu, Güler (72) pnömonili koyun ve kuzu akciğerlerinden izole edilen 10 *M.ovipneumoniae* ve 20 *M.arginini* suşuyla yapılan antibiyotik duyarlılık testinde, *M.ovipneumoniae*

suşlarının eritromisin ve streptomisine dirençli, oksitetrasiklin, klortetrasiklin, gentamisin, tylosin, spiramisin, enrofloksasin ve linkospektine duyarlı, M.arginini suşlarının ise tümünün streptomisine dirençli, 15'inin eritromisine, 9'unun klortetrasikline, 6'sının gentamisine, 1'inin oksitetrasikline dirençli, tüm suşların tylosin, spiramisin, enrofloksasin ve linkospektine duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Cooper ve ark. (47) veteriner hekimlik alanında önemli mikoplazma türlerinin in vitro olarak danofloksasin, tylosin ve oksitetrasikline olan duyarlılıklarını belirledikleri bir araştırmada danofloksasinin diğerlerine oranla daha etkili olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışmada izole edilen 43 M.arginini ve 18 M.ovipneumoniae suşunun Kirby-Bauer disk diffuzyon metodu ile PPLO agarda yapılan antibiyotik duyarlılık testinde, M.arginin suşlarının 42'si (%97.67) enrofloksasine, 40'ı (93.02) danofloksasine, 40'ı (%93.02) oksitetrasikline, 39'u (%90.69) ampisiline, 7'si (%16.27) eritromisine duyarlı, antibiyogram testine tabi tutulan tüm suşların ise streptomisine dirençli olduğu saptandı. M.ovipneumoniae suşlarının ise 18'i (%100) enrofloksasine, 17'si (%94.44) oksitetrasikline, 16'sı (%88.88) danofloksasine, 16'sı (%88.88) ampisiline, 2'si (%11.11) eritromisine duyarlı bulunurken tüm suşların streptomisine dirençli olduğu saptandı. Testte kullanılan antibiyotik çeşitleri gözönüne alındığında, sonuçlar

Jones ve ark. (87), Güler (72) ve Cooper ve ark. (47) nın bildirdikleri sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak; pnömonik koyun akciğerlerinden tek başına yada diğer etkenlerle birlikte yüksek oranda izole edilen mikoplazmaların, koyun pnömonilerinin oluşumunda primer etiyolojik etken olabileceği düşünülmektedir. Konuyla ilgili bakteriyolojik çalışmaların yanısıra virolojik, serolojik, parazitolojik ve histo-patolojik yoklamaların birlikte yürütüleceği araştırmaların yapılması yararlı olacaktır.



7. ÖZET

Bu çalışmada, Kars yöresinde koyun pnömonilerinden mikoplazmaların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının saptanması amaçlandı.

Çalışmada, Ocak 1995-Aralık 1995 tarihleri arasında Kars Belediye Mezbahası'nda kesilen 1354 koyuna ait akciğerlerin, makroskopik olarak incelenmesi sonucu pnömonik bulunan (verminöz pnömoni hariç) 120 akciğer ile Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na teşhis amacıyla getirilen 127 pnömonik koyun akciğeri olmak üzere toplam 247 pnömonik koyun akciğeri kullanıldı. Akciğer örneklerinin PPLO agar ve buyyona ekimleri sonucu, 61'inden (%24.69) mikoplazma suşu izole edildi. Suşların 35'i (%57.37) tek başına 26'sı (%42.62) diğer bakterilerle birlikte bulundu. Çalışmada değerlendirilen 30 sağlıklı koyun akciğerinden ise mikoplazma izole edilemedi.

Pnömonik akciğerlerden izole edilen 61 mikoplazma suşunun koloni morfolojisi, glikoz fermentasyonu, arginin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, fosfataz testi, hemoliz testi ve üreme inhibisyon testi ile 43'ü (%70.5) M.arginini, 18'i (%29.5) M.ovipneumoniae olarak identifiye edildi.

Yapılan antibiyotik duyarlılık testinde, 43 M.arginini suşunun 42'si (%97.67) enrofloksasine, 40'ı (%93.02) danofloksasine, 40'ı (%93.02) oksitetrasikline,

39'u (%90.69) ampisiline, 7'si (%16.27) eritromisine duyarlı, tüm suşlar ise streptomisine dirençli bulundu. Onsekiz *M.ovipneumoniae* suşunun tümünün (%100) enrofloksasine, 17'sinin (%94.44) oksitetrasikline, 16'sının (%88.88) danofloksasine, 16'sının (%88.88) ampisiline 2'sinin (%11.11) eritromisine duyarlı, test edilen suşların tümünün ise streptomisine dirençli olduğu saptandı.

Araştırmada 247 pnömonik akciğerin 71'inden (%28.74) toplam 81 bakteri suşu izole edildi. Bu suşların 56'sı (%69.13) *P.haemolytica*, 11'i (%13.58) *staphylococcus sp.*, 5'i (%6.17) *Streptococcus sp.*, 5'i (%6.17) *E.coli*, 4'ü (%4.93) *B.anthraxis* olarak identifiye edildi.

Pnömonik akciğerlerden tek başına yada diğer etkenlerle birlikte yüksek oranda izole edilen mikoplazmaların, koyun pnömonilerinin oluşumunda primer bir etiyolojik rol oynayabileceği kanısına varıldı.

8. SUMMARY

Isolation, identification and antibiotic sensitivity of mycoplasmas from sheep pneumonia in Kars District.

The aim of this study was isolation, identification and to determine antibiotic sensitivity of mycoplasmas from sheep pneumonia in Kars District.

One thousand thirty hundred fifty four sheep lungs were examined by macroscobically slaughtered animals at Kars Municipality Abottoire between January 1995 December 1995. One hundred twenty out of 1354 sheep lungs were pneumonic by macroscobically. The other hand 127 pneumonic sheep lungs were used in this study, brought to Microbiology Department for the diagnosis. So 247 pneumonic lungs were used. In the other hand 30 normal lungs were also used.

Sixty one mycoplasma strains were isolated from 61 of 247 (24.69%) pneumonic lungs. Thirty five out of 61 (57.37%) isolated mycoplasma strains were with alone and the remains (42.62%) together other bacteria. There is no isolated mycoplasma strains from 30 normal lungs.

Isolated mycoplasma strains were identified with using following tests : Colony morphologies, fermentation of glucose, hydrolysis of arginine, reduction of tetrasolium, film and spot production, phosphatase, haemolysis and growth inhibition. Fourty three of 61 (70.5%) M.arginini and 18 of 61 (29.5%) M.ovipneumoniae were identified with above tests.

In antibiotic sensitivity test 42 out of 43 (97.67%) *M.arginini* strains to enrofloxacin, 40 (93.02%) danofloxacin, 39 (90.69%) ampicillin, 7 (16.27%) erythromycin were sensitive, but all strains were found resistant to streptomycin. All of the 18 *M.ovipneumoniae* strains (100%) to enrofloxacin, 17 (94.44%) to oxytetracycline, 16 (88.88%) danofloxacin, 16 (88.88%) to ampicillin, 2 (11.11%) erythromycin were sensitive. All the strains were found resistant to streptomycin.

From the 71 of 247 (28.74%) pneumonic lungs, totally 81 bacteria strain were isolated. This strains were identified as follows ; 56 (69.13%) *P.haemolytica*, 11 (13.58%) *Staphylococcus* spp., 5 (6.17%) *Streptococcus* spp., 5 (6.17%) *E.coli* and 4 (4.93%) *B.anthraxis*.

It was suggested that mycoplasmas isolated with alone or together other agents from pneumonic lungs could be primarily etiological agent in the sheep pneumonia.

9. KAYNAKLAR

- 1-ADLER, H.E. and YAMAMOTO, M.A. (1956) : Preparation of New Pleuropneumoniae-Like Organisms Antigen for the Diagnosis of Chronic Respiratory Disease by Agglutination Test. Am.J.Vet.Res., 63, 290-293.In:BEŞE, M., ARDA, M (1969):Koyunlarda Mycoplasma agalactiae'nin İlk İzolasyonu Üzerinde Araştırmalar. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 16, 257-266.
- 2-AK, S., AK, K., BEŞE, M., ILGAZ, A., İLERİ, İ.K., HASÖKSÜZ, M. (1992) : Marmara Bölgesine Gönderilen Boğaların Genital Sistemlerinde Mycoplasmosis. Pendik Vet. Mikrobiyol.Derg., 23(2),155-174
- 3-AK, K., AK, S., ÖZGÜR, Y., RAHİMİ, H., İLERİ, İ.K., ILGAZ, A. (1993) : Boğalarda Mikoplazma bovigenitalium'un Spermatolojik Özelliklere Etkisi. Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg., 24 (2) 149-156
- 4-AKAN, E.(1986) : Tıbbi Mikrobiology. Derya Basın-Yayın Tic. ve Ofset Matbaası. KONYA
- 5-AKSOY, E. (1993) : Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü'ne Gelen Koyun Materyallerinde Mikoplazmal Enzootik Pnöymoni Olayları ve Patolojik Bulgular. Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg., 7(4):172-197
- 6-AKTAN, M. (1968) : Liyofilize Edilen Kültürlerin 12 Yıl Sonra Canlı Kalan Bakteri Sayılarının Yüzde Nisbetleri Üzerinde Araştırma. Türk Hij. Tec. Biyo. Derg., 3, 273-282.
- 7-AL-AUBAIDI, J.M., TAYLOR, W.D., BUBASH, G.R., DARDIRI, A.H. (1972) : Identification and Characterization of Mycoplasma arginini from Bighorn Sheep (Ovis canadensis) and Goats. Am. J. Vet. Res., Vol. 33, No 1., pp.87-90
- 8-ALİBAŞOĞLU, M., YEŞİLDERE, T. (1988) : Veteriner Sistemik Patoloji. Cilt I. Kardeşler Basımevi. İstanbul.
- 9-ALLEY, M.R., CLARKE, J.K. (1979) : The Experimental Transmission of Ovine Chronic Non-progressive Pneumonia. N. Z. Vet. J., 27 : 10, 217-220.
- 10-ALLEY, M.R., CLARKE, J.K. (1980) : The Effect of Chemotherapeutic Agents on the Transmission of Ovine Chronic Non-progressive Pneumoniae. N.Z. Vet.J., 28: 4,77-80.
- 11-ALLEY, M.R., QUINLAND, J.R., CLARKE, J.K. (1975) : The Prevalance of Mycoplasma ovipneumoniae and

- Mycoplasma arginini from Bighorn Sheep. N. Z. Vet. J. 23. pp. 87-90
- 12-ARDA, M. (1985) : Genel Bakteriyoloji. A. Ü. Vet. Fak. Yay. No:402. Ankara
- 13-ARDA, M., BEŞE, M. (1974) : Yurdumuzda İzole Edilen M.capri Suşlarının Üreme İnhibisyon ve Agar Jel Diffusyon Teknikleri ile Antijenik Analizleri Üzerinde Araştırmalar. A.Ü.Vet. Fak.Derg.,21:26-33
- 14-ARDA, M., İZGÜR, M. (1984): Kanatlılarda mikoplazma infeksiyonları. Etlik Vet. Mikrobiyol. Enst. Derg., 5 (6-7) 124-129
- 15-ARDA, M., MİNBAY, A., LELOĞLU, N., AYDIN, N., AKAY, Ö. (1992) : Mikoplazma infeksiyonları. "Özel Mikrobiyoloji". Atatürk Üniversitesi Basım-evi. Erzurum.
- 16-ARISOY, F. ve ERDAĞ, O. (1978) : Liyofilize Keçi Ciğerağrısı Aşısının Bağışıklık ve Saklama Süresinin Saptanması. Pendik Vet. Bakteriyol. ve Serol. Enst. Derg., Ayrı Baskı. Cilt X, Sayı 1,
- 17-ARISOY, F., ETHERIDGE, J.R., FOGGIE, A. (1969) : Türkiye'de Koyun ve Keçilerden İzole Edilmiş Olan 15 Mycoplasma Suşunun Üremesine In Vitro Oxytetracycline, Erythromycin ve Tylosinin Tesiri. Pendik Vet. Kont. Araş. Enst. Derg. Cilt II, Sayı I, pp. 137-149.
- 18-AYTUĞ, C.N., ALAÇAM, E., ÖZKOÇ, Ü., YALÇIN, B.Ç., GÖKÇEN, H., TÜRKER, H. (1990) : Koyun-Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği. TÜM VET Hayvancılık Hizmetleri Sanayi Ticaret. Bursa.
- 19-BAKKE, T. (1982) : The occurrence of Mycoplasma and Bacteria in Lungs from Sheep in Southern Norway. Acta Vet.Scand., 23,235-247
- 20-BAKKE, T., NOSTVOLD, S. (1982) : An Investigation of Ovine Pneumoniae in Four Herds from Central Norway. I. Prevalance of Pneumoniae and Microbiological Findings. Acta.Vet.Scan. 23: 2, 248-258.
- 21-BARILE, M.F. (1983) : Arginin Hydrolysis. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed.S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 345-349
- 22-BARILE, M.F., DEL GIUDICE, R.A., CARSKI, T.R., GIBSS, C.J., and MORRIS, J.A. (1968) : Proc. Soc. Exp. Biol.Med. 129, 489-494. In : The Mycoplasmas. Vol II. Human and Animal Mycoplasmas. Ed. J.G.TULLY, R.F.WHITCOMB. Academic Pres. New York 1979, pp. 103-132.

- 23-BAUER, A.W., KIRBY, W.M.M., SHERRIS, J.C. and TRUCK, M. (1966): Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disc Method. J.Clin.Pathol. 45:493-494
- 24-BAYSAL, T., GÜLER, L. (1992) : Konya Yöresindeki Kuzu ve Oğlakların Enzootik Pnömonilerinden Bakteriyel etken izolasyonu. Veterinarium, 3 (1) 1-5.
- 25-BEREITER, M., YOUNG, T.F., JOO, H.S., ROSS, R.F.(1990): Evaluation of the ELISA and comparison to the complement fixation test and radial immunodiffusion enzyme assay for detection of antibodies against Mycoplasma hyopneumoniae in swine serum.Vet.Mic., 25:177-179.
- 26-BEŞE, M. (1968) : Mycoplasma capri'nin Yaşama Kabiliyeti Üzerinde Araştırmalar. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 15, 3-4, 324-331.
- 27-BEŞE, M. (1989) : Mikrobiyolojide Kullanılan Antibiyotik Duyarlılık ve Deneme Yöntemleri. Kardeşler Basımevi., İSTANBUL
- 28-BEŞE, M., ARDA, M. (1969) : Koyunlarda Mycoplasma agalactiae'nin İlk İzolasyonu Üzerinde Araştırmalar. A. Ü. Vet. Fak. Derg.,16:257-266.
- 29-BİLGEHAN, H.(1990): Klinik Mikrobiyoloji.Doğruluk Matbaası.İZMİR
- 30-BİLGEHAN, H. (1992) : Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi., İZMİR
- 31-BLOOD, D.C. ,RADOSTITS, O.M., ARUNDEL, J.H., GAY,C. C.(1989): Veterinary Medicine. A Textbook of the diseases of cattle,sheep, pigs,goats and horses. 7th Ed. Bailliere, Tindall.
- 32-BOIDIN, A.G., CORDY, D.R. and ADLER, H.E. (1958) : Cornell Vet., 40, 410. In : KRAUSS, H. and WANDERA, J.G. (1970) : Isolation and Properties of Mycoplasma from the Respiratory Tract of Sheep with Jaagsiekte in Kenya. J.Comp.Path., 80,389-397
- 33-BRADBURY, J.M. (1983) : Phosphatase Activity. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed.S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 363-366
- 34-BREDT, W. (1983) : Phase-Contrast Microscopy. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol I. ,Ed.S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp.31-33
- 35-BREDT, W. (1983) : Examination of Mycoplasmas for Motility. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol I. Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic Pres. New York. pp. 89-90.

- 36-BRIDRE, J. and DONATIEN, A. (1923) : C. R. Acad. Sci. 177, 841-843. In : Caprine-ovine Mycoplasmas. COTTEW, G.S. In : The Mycoplasmas. Vol II. Human and Animal Mycoplasmas Ed.J.G.TULLY and R.F.WHITCOMB. Academic Press. New York. 1979. pp. 103-132.
- 37-BRODGEN, K.A., ROSE, B.S., CUTLIP, R.C., LEHMKUHL, H.D., TULLY, J.G. (1988) : Isolation and Identification of Mycoplasmas from the Nasal Cavity of Sheep. Am. J. Vet. Res. Vol. 49, pp. 1669-1672
- 38-BUDDLE, B.M., HERCEG, M., DAVIES, D.H. (1984) : Comparison of Virulence of Ovine Respiratory Mycoplasmas in the Mouse Mammary Gland. Vet. Microbiol. 9: 4, 367-374.
- 39-BUDDLE, B.M., HERCEG, M., DAVIES, D.H. (1984) : Experimental Infection of Sheep with Mycoplasma ovipneumoniae and Pasteurella haemolytica. Vet. Microbiol. 9: 6, 543- 548.
- 40-CARMICHAEL, L.E., GEORGE, T.D., SULLIVAN, N.D., HORSFALL, N. (1972) : Isolation, Propagation and Characterization Studies of an Ovine Mycoplasma Responsible for Proliferative Interstitial Pneumoniae. Cornell Vet., 62, No.4, 654-679.
- 41-CARTER, G.R., CHENGAPPA, M.M, CLAUS, G.W., RIKIHISA, Y. (1991) : Mycoplasmas. In : Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology. 4th. Ed. Lea and Febiger.
- 42-CASSEL, G.H., BROWN, M.B. (1983) : Enzyme-Linked Immunosorbent assay (ELISA) for Detection of Anti-mycoplasmal Antibody. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol I., Ed. S.RAZIN, J.G. TULLY, Academic Pres. pp. 457- 469.
- 43-CHATURVEDI, V.K., PATHAK, R.C., SINGH, P.P and PAL, B.C. (1991): Isolation and Characterization of Mycoplasmas from Respiratory tract of Sheep. Indian Vet. J. 68,808-811.
- 44-CLYDE, W.A (1983) : Growth Inhibition Tests. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed.S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 405-410
- 45-CLYDE, W.A. (1983) : Mycoplasma-Animal Host Interrelationships. In: Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed.S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp.15-19
- 46-CLYDE, W.A. and MCCORMACK, W.M. (1983) : Collection and Transport of Specimens. In : Methods in

- Mycoplasmaology. Vol I. Ed.S.RAZIN, J.G. TULLY, Academic Pres. New York. pp. 103-107.
- 47-COOPER, A.C. , FULLER, J.R., FULLER, A.K., WHITTLESTONE, P., WISE, D.R.(1993): In Vitro Activity of Danofloxacin, Tylosin and Oxytetracycline against Mycoplasmas of Veterinary Importance. Res. Vet. Sci. 54,329-334
- 48-COTTEW, G.S. (1979) : Caprine-Ovine Mycoplasmas. In : The Mycoplasmas. Vol. II. Human and Animal Mycoplasmas.Ed. J.G. TULLY.,R.F. WHITCOMB. Academic Press. New York. pp. 103-130
- 49-COTTEW, G.S. (1983) : Recovery and Identification of Caprine and Ovine Mycoplasmas. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.II., Ed. J.G. TULLY, S. RAZIN. Academic press. New York. pp. 91-104
- 50-DA MASSA, A.J., PATRICIA, S.W., DALE, L.B. (1992) : Mycoplasmas of Goats and Sheep. J. Vet. Diagn. Invest. 4 (1), pp. 101-103
- 51-DAVIES, D.H.(1985): Aetiology of Pneumoniae of Young Sheep. Prof. Vet. Microbiol. Immun 1:229-248
- 52-DAVIES, D.H., JONES, B.A.H., THURLEY, D.C. (1981) : Infection of Specific-Pathogen- Free Lambs with Parainfluenza Virus Type 3, Pasteurella haemolytica and Mycoplasma ovipneumoniae. Vet. Microbiol. 6, pp. 295-308
- 53-DEIANA, S. and CERETTO, F. (1967) : XXI Conv. Soc. Ital. Sci. Vet., Senigallia, p.612 In : KRAUSS, H. and WANDERA, J.G. (1970) : Isolation and Properties of Mycoplasma from the Respiratory Tract of Sheep with Jaagsiekte in Kenya. J.Comp.Path., 80,389-397
- 54-DURUSAN, R., DOĞUER, M. (1955) : Türkiye' de Kuzuların Akciğerlerinden İzole Edilen Plöropnömonia Grubuna Dahil Organizmler. Türk Vet.Hek.Derg.,25
- 55-EDWARD, D.G., FREUNDT, A.E. (1956) : The Classification and Nomenclature of Organisms of the Pleuropneumoniae Group. J. Gen. Microbiol., 14,197-207
- 56-EL MAHI, M.M., NAYIL, A.A. (1978) : Isolation of Mycoplasmas from Pneumonic Sheep Lungs in the Sudan. Res.Vet.Sci., 24 (3) 314-317.
- 57-ERDAĞ, O. (1972): Kuzu Pneumonisinde Mycoplasma Organizmlerinin Önemi. Pendik Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg., V (2)15-20
- 58-ERDAĞ, O., ERDOĞAN, İ., TÜRKAŞLAN ,J., GÜREL, A. (1993): Buzağı ve Dana Pneumonilerinde Mikoplazma ve Bakteriyel Etkenlerin İzolasyon,

- İdentifikasyon ve Antibiyotik Duyarlılıkları.
Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg., 24 (2)143-148
- 59-ERDAĞ, O., ARISOY, F., WATSON, W.A., COTTEW, G.S.,
FOGGIE, A. (1967) : Türkiye'de Koyun ve
Keçilerden İzole Edilen Mycoplasma Agalactia
Suşlarının Tiplerinin Ayırımı. Pendik Vet.
Kont. Araşt. Enst. Derg., Cilt I, No I. pp.26-
34.
- 60-ERTÜRK, E. (1986) : Özel Patoloji I . Demircan
Yayınevi. Yayın No:3 Bursa.
- 61-ETHERIDGE, J.R., FOGGIE, A., ARISOY, F., ERDAĞ, O.
(1969) : Koyun ve Keçilerin Kontagiyöz
Agalaksisinde Komplement Fiksasyon Testi ile
Teşhis. Pendik Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg.,
Cilt II, Sayı I, 101-136.
- 62-FOGGIE, A., ANGUS, K.W. (1972) : Observations on the
Distribution of Mycoplasma arginini as a
Respiratory Tract Infection in Sheep and its
Pathogenicity for Specific Pathogen Free Lambs.
Vet. Rec. 90. 312-313
- 63-FOGGIE, A., JONES, G.E., BUXTON, D. (1976) : The
Experimental Infection of Specific Pathogen
Free Lambs with Mycoplasma ovipneumoniae. Res.
Vet. Sci., 21,28-35
- 64-FREUNDT, E.A. (1983) : Film and Spot Production. In :
Methods in Mycoplasmaology. Vol. I., Ed. S.
RAZIN, J.G. TULLY, Academic Press. New York.
pp. 373-374
- 65-FREUNDT, E.A. (1983) : Principles of Mycoplasma
Clasification and Taxonomy. In : Methods in
Mycoplasmaology. Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G.
TULLY, Academic press, New York, pp. 9-13
- 66-FREUNDT, E.A. (1983) : Culture Media for Classic
Mycoplasmas. In: Methods in Mycoplasmaology.
Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic
press, New York, pp. 127-135
- 67-GARDELLA, R.S., DEL GIUDICE, R.A. (1983) : Optimal
Temparature and Atmospheric Conditions for
Growth. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.
I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY. Academic Pres.
New York.pp. 211-215.
- 68-GARDELLA, R.S., DEL GIUDICE, R.A. (1983) :
Hemagglutination, Hemadsorption and Hemolysis.
In : Methods in Mycoplasmaology. Vol. I., Ed. S.
RAZIN, J.G. TULLY. Academic Pres. New York. pp.
379-384.
- 69-GARDELLA, R.S., DEL GIUDICE, R.A., TULLY, J.G. (1983)
: Immunofluorescence. In : Methods in

- Mycoplasmaology. Vol. I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic Pres. New York. pp. 431-439.
- 70-GHAROGOZLOU, K.J., TABATABAYI, A.H., FORCI, M. (1992) : Pathology of Ovine Subacute to Chronic Pneumonia Associated with Mycoplasma arginini in Iran. Studies Res. Vet. Med. 1 (1) 25-31.
- 71-GREIG, A.S. (1955) : Canad. J. Comp. Med. and Vet. Sci. 19,265. In : CHATURVEDI, V.K., PATHAK, R.C., SINGH, P.P. and PAL, B.C. (1991): Isolation and Characterization of Mycoplasmas from Respiratory Tract of Sheep. Indian Vet.J., 68, pp. 808-811.
- 72-GÜLER, L. (1994) : Pnömonili koyun ve keçilerden Mikoplazmaların İzolasyonu, İdentifikasyonu ve antibiyotiklere olan Duyarlılıklarının Belirlenmesi. Doktora tezi. S.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Konya
- 73-GÜRTÜRK, S. (1959) : Keçi Ciğer Ağrısı Üzerinde Çalışmalar. Keçi Ciğer Ağrısı Hastalığının Epidemiyolojisi, Hastalık Tablosu, Teşhis ve İmmunolojisi. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 3-4, 268-280.
- 74-HOLT, J.G., KRIEG, N.R., SNEATH, P.H.A, STALEY, J.T., WILLIAMS, S.T. (1994): The Mycoplasmas. (Or Mollicutes): Cell wall-less bacteria. In : Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th. Ed. Williams and Wilkins, Baltimore.
- 75-HOOVER, D.M., THACKER, H.L. (1979) : Ovine Pulmonary Cytomegalovirus. Vet.Path. 16 : 4, 413-419.
- 76-IONAS, G., ALISON, M.J. (1985) : Colonisation of the Respiratory Tract of Lambs by Strains of Mycoplasma ovipneumoniae. Vet. Microbiol. 10, 533-539
- 77-IONAS, G., CLARKE, J.K., MARSHALL, R.B. (1991): The Isolation of Multiple Strains of Mycoplasma ovipneumoniae from Individual Pneumonic Sheep Lungs. Vet. Microbiol. 29, 349-360
- 78-IŞILDAR, B., YALÇIN, N. (1960) : Salgın Keçi Ciğer Ağrısı Amilinin (M.mycoides v.capri) Koloni Karakterleri Üzerine Araştırmalar. Türk Vet. Hek. Dern. Derg., 592-596
- 79-JAWETZ, E., MELNICK, J.L., ADELBERG, E.A., BROOKS, G.F., BUTEL, J.S., ORNSTON, L.N. (1989) : Medical Microbiology. Eighteen Ed. Librarie du Liban.
- 80-JONES, G.E. (1983) : Mycoplasmas of Sheep and Goats: A synopsis. Vet. Rec. 113. 619-620
- 81-JONES, G.E. (1985) : Contagious Caprine Pleuropneumoniae. Technical Series No.9, Office International des Epizooties. Paris, France.

- 82-JONES, G.E., GILMOUR, J.S. (1983) : Atypical pneumoniae. In : Diseases of sheep. Ed. W.B. MARTIN, 17-23. Blackwell Scientific Publications. London
- 83-JONES, G.E., GILMOUR, J.S., RAE, A.G. (1982) : The Effects of *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Pasteurella haemolytica* on Specific Pathogen-Free Lambs. *J. Comp. Path.*, 92, 261-266
- 84-JONES, G.E., GILMOUR, J.S., RAE, A.G. (1982) : The Effects of Different Strains of *Mycoplasma ovipneumoniae* on Specific Pathogen Free and Conventionally Reared Lambs. *J. Comp. Path.*, 92, 267-272
- 85-JONES, G.E., GILMOUR, J.S., RAE, A.G. (1985) : Investigations into the possible role of *Mycoplasma arginini* in Ovine Respiratory Disease. *Res.Vet.Sci.*, 38,368-372.
- 86-JONES, G.E., FOGGIE, A., MOULD, D.L., LIVITT, S. (1975) : The Comparison and Characterisation of Glycolytic *Mycoplasmas* Isolated from the Respiratory Tract of Sheep. *G. Med. Microbiol.*, Vol. 9, 39-51
- 87-JONES, G.E., FOGGIE, A., MOULD, D.L., LIVITT S. (1976): *J.Med.Microbiol.* 9, 39-52. In : Caprine-Ovine *Mycoplasmas*. COTTEW, G.S. In: *The Mycoplasmas. Vol II. Human and Animal Mycoplasmas.* Ed.J.G. TULLY and R.F. WHITCOMB. Academic Press. New York. 1979. pp. 103-132
- 88-JORDAN, F.T.W., HORROCKS, K.B., JONES, S.K. (1991): A comparison of Baytril, Tylosin and Tiamulin in the Control of *Mycoplasma iowae* Infection of Turkey Poults. *Avian Pathol.*, 20, 283-289
- 89-KANAMOTO, Y., KOTANI, H., OGATA, M., MATSUO, Y. (1983) : Isolation of *Mycoplasma* and *Ureaplasma* Species from Raccoon Dogs (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*). *J. Gen. Microbiol.* 129 (8) 2447-50.
- 90-KAYA, O., ERGANİŞ, O., BOYNUKARA, B. (1993) : Koyun, Kuzu ve Buzağı Pnömonilerinde Bakteriyel Etiyoloji ve Antibiyogram. *Türk Vet. Hek. Derg.*, 5, 2 : 57-61
- 91-KENNY, G.E. (1991): *Mycoplasmas.* In : *Manuel of Clinical Microbiology.* Ed. A. BALOWS, 5th.Ed. Washington, D.C. USA
- 92-KHANE, I., BREDET, W. (1983) : Tests for Adherence Properties of *Mycoplasmas.* In : *Methods in Mycoplasmaology.* Vol.II. Ed. J.G. TULLY., S. RAZIN. Academic press. New York. pp. 345-353

- 93-KIMBERLING, C.V.(1988): Jensen and Swift's Diseases of Sheep. Lea-Febiger, Philadelphia, USA
- 94-KIRAN, M.M. (1990) : Konya Bölgesi Kuzu Pnömonilerinde Patolojik ve Etiyolojik Araştırmalar. Doktora Tezi., S. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, KONYA
- 95-KINGSBURY, D.T., WAGNER, G.E.(1990) : Microbiology. 2nd. Ed. The National Medical Series for Independent Study. Herwall Publishing Campany, Media, Pensylvania.
- 96-KRAUSS, H., WANDERA, J.G. (1970) : Isolation and Properties of Mycoplasma from the Respiratory Tract of Sheep with Jaagsiekte in Kenya. J. Comp. Path. Vol. 80 . 389-397
- 97-LAAK, A., RUHNKE, H.L. (1995) . Mycoplasma Infections of Cattle. In : Moleculer and Diagnostic Procedurs in Mycoplasmology. Vol.2, Academic Press. pp.255-264
- 98-LEACH, R.H. (1970) : The Occurence of Mycoplasma arginini in Several Animal Gosts. Vet. Rec., 12. 319-320
- 99-LONGLEY, E.O. (1951) : Colon. Res. Publ., London No.7. In : Caprine-ovine Mycoplasmas. COTTEW, G.S. In : The Mycoplasmas. Vol II. Human and Animal Mycoplasmas Ed. J.G.TULLY and R.F.WHITCOMB. Academic Press. New York. 1979. pp. 103-132.
- 100-MACKAY, J.M.K., NISBET, D.K. and FOGGIE, A. (1963) :Isolation of Pleuropneumoniae-Like Organisms (genus Mycoplasma) from Cases of Sheep Pulmonary Adenomatosis (SPA). Vet.Rec., 75,550.In:JONES, G.E., FOGGIE, A.,MOULD,D.L. and LIVITT, S. (1976)The Comparison and Characterisation of Glycolytic Mycoplasmas Isolated from the Respiratory Tract of Sheep. J. Med. Microbiol. Vol 9. pp. 39-51.
- 101-MACKAY, J.M.K., NISBET, D.I. and FOGGIE, A.(1963) : Vet.Rec., 75,550. In : KRAUSS, H. and WANDERA, J.G. (1970) : Isolation and Properties of Mycoplasma from the Respiratory Tract of Sheep with Jaagsiekte in Kenya. J.Comp.Path., 80,389-397
- 102-MALONE, F.E., MCCULLOUGH, S.J., MCLOUGHLIN, H.J.B., O'HAGAN, S.D.N. (1988) : Infectious Agents in Respiratory Disease of Housed, Fattening Lambs in Nothern Ireland.,Vet. Rec., 122: 203-207
- 103-MARTIN, W.B.(1983): Respiratory Diseases Induced in Small Ruminants by Viruses and Mycoplasma. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 2 (2) : 311-334
- 104-MOHAN, K., OBWOLO, M.J., HILL, F.W. (1992) : Mycoplasma ovipneumoniae Infection in

- Zimbabwean Goats and Sheep. J. Comp. Pathol. 107 (1): 73-79.
- 105-NOBEL, T.A. (1958) : Refuah Vet., 15, 101. In : KRAUSS, H. and WANDERA, J.G. (1970) : Isolation and Properties of Mycoplasma from the Respiratory Tract of Sheep with Jaagsiekte in Kenya. J.Comp.Path., 80, 389-397
- 106-NOSTVOLD, S., BAKKE, T. (1982) : An Investigation of Ovine Pneumoniae in Four Herds from Central Norway. II. Relation Between Pathomorphology and Presence of Microorganisms. Acta. Vet. Scan., 23: 2, 259-274.
- 107-ONUL, B. (1980): İnfeksiyon Hastalıkları.A. Ü.Basımevi.ANKARA
- 108-OPITZ, H.M., DUPLESSIS, J.B and CYR, M.J. (1983) : Indirect Microenzym-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Antibodies to Mycoplasma synoviae and M.gallisepticum. Avian Dis., 27: 773-786.
- 109-ÖĞÜTMAN, R. (1992) : Medical Microbiology (Lectures of Bacteriology, Virology, Mycology, Parasitology, Immunology and Infectious Diseases). Eko Ofset. İstanbul
- 110-ÖZER, H., GÜLCÜ, H.B. (1986) : Kuzu ve Oğlakların Enzootik Pnömonileri ile İlgili Gözlemler. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg. 2(1):135-141
- 111-PAMUKÇU, M. (1970) : Veteriner Patoloji. Cilt II. A.Ü.Basımevi, Ankara.
- 112-PASIC, S., POPOVIC. M. (1990) : Study of Ovine Mycoplasmas in Bosnia and Hercegovina. 2. Enrichment Medium for Isolation of Ovine Mycoplasmas. Vet.Sarajevo., 38: 3-4, 307-311.
- 113-PFEFFER, A. ,THURLEY ,D.C., BOYES, B.W., DAVIES, G.B., PRICE, M.C. (1983) : The Prevalance and Microbiology of Pneumonia in a Flock of Lambs. N. Z. Vet. J. 31 : 196-202
- 114-POLIKARPOV, V.A., SHCHERBAKHA, Y.I., POPOVA, R.F., ERMAKOVA, I.B. (1977) : Morphological Changes in Lambs Experimentally Infected with Mycoplasmas Cultures (Associated with Lamb Pneumonia).Trudy Vsesoyuznogo Instituta, Eksperimental noi-Veterinariii. 46: 55-57.
- 115-POPOVIC, M., PASIC, S. (1986) : Study of Ovine Mycoplasmas in Bosnia and Hercegovina. I. Results of Isolation from Pneumonic Lungs of Sheep. Veterinaria.,Yugoslavia., 35:4 pp.493-496.
- 116-QUINLAN, J.R., ALLEY, M.R. and CLARKE, J.K. (1975): N.Z.Vet.J.23,188-189.In:Caprine-Ovine

- Mycoplasmas. COTTEW, G.S. In : The Mycoplasmas. Vol II. Human and Animal Mycoplasmas. Ed. J.G. TULLY and R.F. WHITCOMB. Academic Press. New York. 1979. pp. 103-132
- 117-RAZIN, S. (1983) : Introductory Comments. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol I. Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic Pres. New York. pp. 29-30.
- 118-RAZIN, S. (1983) : Urea Hydrolysis. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 351-353
- 119-RAZIN, S. (1983) : Identification of Mycoplasma Colonies. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 83-88
- 120-RAZIN, S. (1983) : Characteristics of The Mycoplasmas as a Group. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press. New York. pp. 3-7
- 121-RAZIN, S., CIRILLO, V.P. (1983) : Sugar Fermentation. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 337-345
- 122-RAZIN, S., FREUNDT, E.A. (1984): The Mycoplasmas. In: Bergey's Manual of Bacteriology. Vol I. Ed. N.R. KREIG, J.G. HOLT. pp. 740-770., Williams and Wilkins, Baltimore.
- 123-RAZIN, S., TULLY, J.G. (1970) : Cholesterol Requirement of Mycoplasmas. J. Bacteriol. Vol. 102, 306-310
- 124-ROBERT, F. (1983) : Frobisher and Fuerst's Microbiology in Health and Disease 15th. Ed. Japan
- 125-ROBINSON, D.T. (1983) : Metabolism Inhibition Tests. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol I. Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic Pres. New York. pp. 411-417.
- 126-RODWELL, A.W. (1983) : Introductory Remarks. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press. New York. pp. 93-97
- 127-ROSENDAL, S. (1986) : Mycoplasma. In: GYLES, C.L., THOEN, C.O. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Iowa State University Press. Ames. pp. 205-215
- 128-SALAMI, J.O., ADDO, P., UMOH, J.U., ADEGBOLE, D.S. (1992): Chicken Mycoplasmosis. A review with Special Reference to Mycoplasma gallisepticum and M. synoviae. Vet. Bull. 62 (6) 511-520

- 129-SENTERFIT, L.B. (1983) : Tetrazolium Reduction. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 377-378
- 130-SENTERFIT, L.B. (1983) : Preparation of Antigens and Antisera. In : Methods in Mycoplasmaology . Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 401-404
- 131-SMITH, P.F. and MORTON, H.E. (1951) : The Separation and Characterization of the Growth Factor in Serum and Ascitis Fluid which is Required by Certain Pleuropneumoniae-Like Organisms. J. Bact., 61, 395-405. BEŞE, M., ARDA, M. (1969): Koyunlarda Mycoplasma agalactiae'nin İlk İzolasyonu Üzerinde Araştırmalar. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 16: 257-266.
- 132-STAMP, J.T., NISBET, D.I. (1963) : Pneumonia of Sheep. J. Comp. Path. Vol. 73. 319-328
- 133-ST GEORGE, T.D. (1972) : Investigations of Respiratory Disease of Sheep in Australia. Aust.Vet.J. 48:318-322
- 134-ST GEORGE, T.D., CARMICHAEL, L.E. (1975) : Isolation of Mycoplasma ovipneumoniae from Sheep with Chronic Pneumoniae. Vet. Rec., 97: 205-206
- 135-TABATABAYI, A.H., GHORAGOZLOU, M.J., GHADER-SOHI, A. (1992) : A Survey of Mycoplasma arginini and Agents from Subacute and Chronic Ovine Pneumoniae in Iran. Preventive Vet. Med. 12: 153-158
- 136-THE MERCK VETERINARY MANUAL (1991): Nonprogressiv Pneumoniae. 7th.Ed. pp. 755-756. Merck and Co., Inc. Rahway, N.J. USA
- 137-THURLEY, D.C., BOYES, B.W., DAVIES, D.H., WILKINS, M.F., O'CONNELL, E., HUMPHREYS, S. (1977) : Subclinical Pneumoniae in Lambs. N. Z. Vet. J. 25 : 173-176
- 138-TULLY, G.J. (1983) : Dark- Field Microscopy. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 35-37
- 139-TULLY, G.J. (1983) : Tests for Digitonin Sensitivity and Sterol Requirement. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 355-362
- 140-TULLY, J.G. (1983) : Intraductory Remarks. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol I., Ed. S. RAZIN, J.G. TULLY, Academic Pres. New York. pp. 339-400.

- 141-TÜRKASLAN, J.(1984) : Sığır Mycoplasmaları. Pendik Vet Mikrobiyol. Derg., XVI (1-2)71-80
- 142-TÜRKASLAN, J. (1989) : Mikoplazma Kültürlerinin Üreme İnhibisyon Testi ile İdentifikasyonu. Pendik Hayv.Hast.Merk.Araşt.Enst. Derg., XX (2): 60-64
- 143-TÜRKASLAN, J. (1992) : Mikoplazmaların İdentifikasyonunda Biyokimyasal Testlerin Yeri ve Teşhis Laboratuvarlarında Uygulanabilirliğinin Saptanması. Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg., 23 (2)165-174
- 144-TÜRKASLAN, J. (1992) :Değişik Hayvan Orjinli Materyallerden İzole Edilen Mikoplazmaların İdentifikasyonu Üzerine Araştırmalar. Uzmanlık tezi. Pendik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü. İSTANBUL
- 145-TÜRKASLAN, J., SALİHOĞLU, H. (1989) : Çeşitli Besiyerleri Kullanılarak Mycoplasma gallisepticum'un Bakteriyolojik Yöntemlerle İzolasyon ve İdentifikasyonu. Pendik Hayv.Hast.Merk.Araşt. Enst.Derg.,XX (2) 53-59
- 146-URMAN, H.K. (1983) : Evcil Hayvanların Özel Patolojik Anatomisi. A. Ü. Basımevi, 39, Ankara.
- 147-ÜNLÜ, M. (1961) : Salgın Keçi Ciğer Ağrısı (Pleuro-pneumonia- Contagiosa- Capra) Hastalığının Etkeni, Tedavi ve Korunması Üzerinde Çalışmalar. Etlik Vet.Bakt.Enst. Derg., 1,4, 287-330.
- 148-VOLK, W.A., WHEDER, M.F. (1988) : Basic Microbiology 6 th. Ed. Harper and Row, Publishers, New York.
- 149-YILMAZ, K., ÖZDEMİR, H. (1994) : Evcil Hayvanlarda Solunum Sistemi Hastalıkları (pnömoni). Bültendif. 3 : 7-11.

10. TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamın yürütülmesinde yardım ve ilgilerini gördüğüm doktora yöneticim Sayın Prof.Dr. Erdoğan FİNCİ'ye, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç.Dr. Fuat AYDIN'a, çalışma arkadaşlarıma, Konya Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü'nden Dr.Leyla GÜLER'e ve Pendik Hayvan Hastalıkları Merkez Araştırma Enstitüsü'nden Uzm.Vet.Hek.Jale TÜRKARSLAN'a teşekkür ederim.



11. ÖZGEÇMİŞ

20.12.1965 yılı Hekimhan (Malatya) doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Malatya'da tamamladım. 1983 yılında 100. Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne girdim. 1987 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne yatay geçiş yaparak 1988 yılında bu fakülteden mezun oldum. Yedek subay olarak askerlik görevimi yaptıktan sonra 1991 yılında Atatürk Üniversitesi Kars Veteriner Fakültesi'nin açmış olduğu Araştırma Görevlisi sınavını kazanarak Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda göreve başladım. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün açtığı Doktora Sınavını kazanarak Kars Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda doktora başladım. Halen Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.