

**ISPARTA VE AFYONKARAHİSAR YÖRESİNDE
KOYUN VE KEÇİLERDE BULAŞICI AGALAKSİ
HASTALIĞI VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Ülkü KARATEKELİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Beytullah KENAR

Tez No: 2019-053

2019- Afyonkarahisar

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ISPARTA VE AFYONKARAHİSAR YÖRESİNDE KOYUN VE
KEÇİLERDE BULAŞICI AGALAKSİ HASTALIĞI VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Ülkü KARATEKELİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Beytullah KENAR

**Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından 18.SAĞ.BİL.16 proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No: 2019-053

2019- AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY


Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

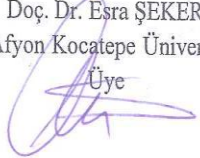
Tezli Yüksek Lisans Programı

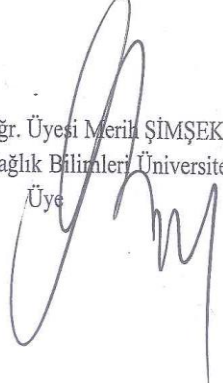
çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05/12/2019


Doç. Dr. Beytullah KENAR
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Jüri Başkanı


Doç. Dr. Esra ŞEKER
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye


Dr. Öğr. Üyesi Merik ŞİMŞEK
Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Üye

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Ülkü KARATEKELİ'nin "Isparta ve Afyonkarahisar Yöresinde Koyun ve Keçilerde Bulaşıcı Agalaksi Hastalığı Varlığının Araştırılması" başlıklı tezigünü saat 'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı Soyadı
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Başta Avrupa, Batı Asya, Kuzey Afrika ve Akdeniz ülkelerinde olmak üzere bütün dünyada yaygın olarak görülen ve Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü tarafından da bildirilmesi zorunlu hastalıklar listesinde yer alan Bulaşıcı agalaksi ülkemizde de görülmektedir. Yüksek morbiditeye sahip olan ve küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin önemli sorunlarından biri olan hastalık mastitis, arthritis, keratokonjunktivitis, abort ve ilerleyen durumlarda ölümlere de sebep olur. Hastalık tedavi masrafları ile birlikte ciddi ekonomik kayıplara neden olur. Gerekli tedbirlerin alınmaması durumunda her yıl tekrarlayan bir hastalık olması da önemini daha da artırmaktadır.

Ülkemizde, Isparta ve Afyonkarahisar yöresinde Bulaşıcı agalaksi hastalığı ile ilgili yeterli çalışma yoktur ve bu çalışma, Bulaşıcı agalaksi hastalığının özellikle kıl keçisi yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı Isparta ve Afyonkarahisar yöresindeki küçükbaş hayvanlarda varlığının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Yüksek Lisans Tez çalışmamın planlanmasında ve yürütülmesinde yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Beytullah KENAR'a, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Esra ŞEKER'e, Selçuk Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Yahya KUYUCUOĞLU'na bilgi ve yardımlarıyla her zaman destek olan Uzman Biyolog Zahide KÖSE'ye, çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen İstanbul Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü Mycoplasma Referans Teşhis Laboratuvarı Şefi Dr. Ümit ÖZDEMİR ve Veteriner Hekim Şefika Hande ERPEK'e, çalışmalarında yardımcı olan Eğirdir İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü Hayvan Sağlığı Şubesi personellerine, her zaman yanımda olan, yardımını, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Veteriner Hekim Serkan KARATEKELİ'ye, sabırla ve özlemlerle çalışmalarımın bitmesini bekleyen ve destekleyen çocuklarıma, beni her zaman maddi, manevi destekleyen annem Saime ARMAĞAN ve babam Vedat ARMAĞAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Önsöz.....	i
İçindekiler	ii
Simgeler ve Kısaltmalar	iv
Tablolar.....	v
Şekiller.....	vi
1. GİRİŞ	1
1.1. Etiyoloji	2
1.2. Epidemiyoloji	6
1.3. Patogenez.....	6
1.4. Klinik Belirtiler.....	9
1.5. Teşhis	11
1.6. Tedavi ve Kontrol	16
1.7. Korunma	17
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	19
2.1. Gereç.....	19
2.1.1. Etik Kurulu İzin Belgesi.....	19
2.1.2. Hayvan Materyali.....	19
2.1.3. Besiyerleri.....	20
2.1.3.1. Mycoplasma Selektif Besiyerleri.....	20
2.1.3.2. Biyokimyasal Test Besiyerleri.....	22
2.1.4. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	22
2.2. Yöntem.....	23
2.2.1. Klinik Muayene.....	23
2.2.2. İzolasyon	23
2.2.3. İdentifikasyon	24

3. BULGULAR.....	25
4. TARTIŞMA.....	27
5. SONUÇ.....	32
ÖZET	33
SUMMARY.....	34
KAYNAKÇA.....	35
ÖZGEÇMİŞ.....	45

SİMGELELER ve KISALTMALAR

ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
LC	Large colony
M	<i>Mycoplasma</i>
Mmc	<i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>capri</i>
Mcc	<i>Mycoplasma capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i>
Mmm LC	<i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> Large Colony
PCR	Polymerase Chain Reaction
PPLO	Pleuro Pneumonia Like Organism
Subsp.	Subspecies

TABLÖLAR

Tablo 1.1. Bazı <i>Mycoplasma</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri.....	5
Tablo 1.2. Küçük ruminantlarda <i>Mycoplasma</i> izolasyon ve identifikasyonu için alınabilecek numuneler.....	12
Tablo 2.1. Çalışma yapılan işletme, hayvan ve numune sayıları.....	19
Tablo 2.2. <i>Mycoplasma agalactiae</i> spesifik primer dizinleri.....	25
Tablo 3.1. İzole edilen <i>Mycoplasma</i> spp. identifikasyon çalışma sonuçları	26

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Bulaşıcı Agalaksi Hastalığının Bulaşma ve Patogenezi.....	8
Şekil 1.2. Bulaşıcı Agalaksi Hastalığının Klinik Belirtileri.....	10
Şekil 1.3. Bulaşıcı Agalaksi Hastalığının Teşhisi.....	15
Şekil 3.1. <i>M. ovipneumoniae</i> kolonileri.....	26

1. GİRİŞ

Türkiye'nin coğrafi yapısı, iklim koşulları, sosyoekonomik yapısı nedeniyle küçükbaş hayvan yetiştiriciliği yapılması için oldukça uygundur. Küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin diğer hayvan yetiştiriciliklerine nazaran maddi olarak kazancı çok olup, yetiştiriciliği de daha kolaydır. Keçiler, coğrafi şartları tarıma ve diğer ruminant yetiştiriciliğine uygun olmayan arazileri, makilik, kayalık alanları daha iyi değerlendirebilirler (Anonim, 2019b; Anonim, 2019a). Dünyada önemli oranda yetiştiriciliği yapılan, tarımsal üretim ve ülke ekonomisinde önemli yere sahip olan koyun da adaptasyon kabiliyeti yüksek, bakım beslemesi kolay, uzun yıllardan beri insanların et, süt, yapağı ve deri ihtiyaçlarını karşılayan bir hayvandır (Şengonca, 2005; Anonim, 2019b). Koyun ve keçi sütü ile süt ürünleri ve yünü daima aranan, kazancı fazla olan ürünlerdir (Da Massa ve ark., 1992).

Bulaşıcı agalaksi özellikle Akdeniz havzasında olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde görülmektedir. Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi (Office International Des Epizooties, OIE) tarafından da bildirilmesi zorunlu hastalıklar listesinde yer alır (Sarris, 1996; Tardy ve ark., 2012; OIE, 2019). Yüksek morbiditeye sahip olan ve küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin önemli sorunlarından biri olan hastalık mastitis, artrit, keratokonjunktivitis gibi karakteristik semptomlar göstermesinin yanı sıra pnemoni, abort ve hastalığın sürüdeki ciddi seyrinde kuzu ve oğlak ölümleri de görülebilir. Hastalık tedavi masrafları ile birlikte ciddi ekonomik kayıplara neden olur (Madanat ve ark., 2001). Antibiyotikler klinik belirtilerin tedavisinde faydalıdır. Ancak kronik hasta hayvanlar tedaviye iyi cevap vermeyebilir ve tedavi edilen hayvanlar taşıyıcı kalabilir. Sürüler her ne kadar hastalığı atlatmış olsa da stres, bağışıklığın azalması veya duyarlı hayvanların sürüye sokulması gibi durumlarda uzun bir zaman sonra da yeni salgınlar oluşabilir (CFSPH, 2018).

Bulaşıcı agalaksi hastalığı öncelikle koyun ve keçileri etkiler. Bulaşıcı agalaksi'ye neden olan etkenlerden *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* (Mcc) ve *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (Mmc) semptomatik veya asemptomatik olarak sığırlarda birkaç kez tanımlanmıştır. Bazı

Güney Amerika devegillerinde Mmc ve Mcc antikorları bulunmuştur ancak enfeksiyon oluşturduğuna dair bir bildirim yoktur. *M. agalactiae*'nin yabani türler arasında bulunan Alp dağ keçisi (*Capra ibex ibex*), İber dağ keçisi (*Capra pyrenaica*) ve Çengel boynuzlu dağ keçisini (*Rupicapra rupicapra*) de etkilediği bilinmektedir. Karaca (*Capreolus capreolus*) ve Kızıl geyiklerde (*Cervus elaphus*) *M. agalactiae* antikorları tespit edilmiştir. Mmc'nin vahşi Alp dağ keçisini ve Karaca antilobunu (*Pelea capreolus*) etkilediği bilinmektedir. Mcc, Karaca antilobunu (*Pelea capreolus*) etkileyebilir ve Dall yaban koyununda (*Ovis dalli dalli*) tespit edilmiştir. Ayrıca etkenin Burma boynuzlu keçilerde (*Capra falconeri*) salgına neden olduğu ortaya çıkmıştır (CFSPH, 2018).

İnsanda bildiriimi yapılan ilk vaka 2014 yılında Almanya'da tespit edilmiştir. Tekrarlayan ateş, şiddetli bacak ağrıları, septisemi belirtileri ve menenjit şüphesi olan, 62 yaşındaki bir erkek hastadan Mcc izole edilmiştir. Hastanın etkene, turistik bir gezi için gittiği ve keçi popülasyonunun yüksek olduğu Cape Verde Adalarını ziyareti sırasında maruz kaldığı düşünülmektedir (Heller ve ark., 2015). Bu vaka 2018 yılına kadar insanda bildirilen, Bulaşıcı agalaksiye neden olan, dört ajandan herhangi birinin neden olduğu tek enfeksiyon raporudur (CFSPH, 2018).

1.1. Etiyoloji

Bulaşıcı agalaksi, başta Akdeniz havzası olmak üzere, keçi ve koyun süt endüstrileri olan ülkelerde ciddi bir ekonomik etkiye sahiptir. Hastalığın ana etiyolojik ajanı *M. agalactiae*'dir. Ayrıca Mmc, Mcc ve *Mycoplasma putrefaciens*, keçilerde patojeniktir. *M. agalactiae*'ya ek olarak Mmc de koyunlarda tanımlanmıştır (Bergonier ve ark., 1997; Chazel ve ark., 2010; Gomez-Martin ve ark., 2013).

Mycoplasma etkeni Tenericutes şubesinde Mollicutes (mollis=yumuşak, cutis=deri) sınıfının Mycoplasmatales dizisindeki Mycoplasmataceae familyasında *Mycoplasma* cinsi içerisinde yer alır. İlk olarak Sığırların Pleuro Pneumonia olgularından izole edilen etken, *Pleuro Pneumonia Like Organism* (PPLO),

Astereococcus, *Anulomyces* diye adlandırılmış ve 1929 yılında *Mycoplasma* olarak isimlendirilmiştir (Aydın ve ark., 2006; Anonim, 2015).

Mycoplasma türleri peptidoglikan sentezleyemediğinden hücre duvarından yoksundurlar ve bunun yerine üç katmanlı, lipidlerden (fosfolipid, glikolipid, lipoglikan, steroller), karbonhidrat ve proteinlerden oluşan esnek bir unit membrana sahiptir. Bu sebeple pleomorfik özelliktedirler. Hücre duvarı sentezini engelleyen penisilin ve türevlerine karşı dirençlidir. Hareketsiz, kapsülsüz, sporsuz olan *Mycoplasma* 'lar en küçük prokaryotik hücrelerdir. Genellikle hareketsizdirler, fakat bazı türlerde kayma hareketi gösterilmiştir. Hücre çapı 300-800 nm arasında değişir ve hücre duvarı olmadığından ultra filtrelenebilirler. Gram negatif özellik göstermelerine rağmen anilin boyalarıyla boyanması güçtür. Boyamak için Casteneda, Macchiavello ve Giemsa gibi boyama yöntemleri kullanılır (Aydın ve ark., 2006; Anonim, 2015; Quinn ve ark., 2016; Khandelwal, 2018).

Mycoplasma 'lar pleomorfik özellikte olduğundan üremeleri de diğer bakterilerden farklılık gösterir ve kokoid formdakiler ortadan bölünerek, filamentöz formda olanlar ise içlerinde elementer cisimcikler (minimal reproduktif ünite) oluşturarak ürerler. Kok şeklinde olanlar (0.2-0.3µm) bağımsız üreyebilen en küçük *Mycoplasma* 'lar olup serbest yaşayan en küçük hücreyi temsil ederler (Aydın ve ark., 2006; Madigan ve Martinko, 2010).

Mycoplasma etkenleri nazlı ürerler ve spesifik üretme faktörlerine ihtiyaç duyarlar. Hücre duvarı olmadığından hipo-ozmatik ortamdaki diğer hücre duvarlı bakterilere kıyasla hücre lizisine daha çok duyarlıdır, bu nedenle izotonik ortama gereksinim duyarlar. Etkeni izole etmek için hazırlanacak besiyerine kolesterol gereksinimlerinden dolayı %20 at serumu ilavesi ve ayrıca üremeyi artırmak için maya ekstraktı ile DNA veya diğer nükleotidlerin katılması gerekmektedir. Gram pozitif bakteri kontaminasyonuna karşı penisilin G, Gram negatif bakteri ve mantarların üremesini engellemek için thallium asetat ilave edilir. Optimal pH 7.2-7.8 olmalıdır. Meydana gelebilecek herhangi bir pH değişimi *Mycoplasma* 'ların üremesini etkiler. Şeker fermentasyonu nedeniyle pH'nın 6.5'in altına düşmesi veya pH'nın 8.0'ın üstüne çıkması etkenin üremesini sınırlandırır ve ölümüne sebep

olabilir. Optimum üreme ısısı 37 °C'dir. Oksijene duyulan ihtiyaç, suşa bağlıdır. Bazı *Mycoplasma*'lar anaerobik koşulları, bazıları da mikroaerofilik koşulları tercih eder. Etken %5-10'luk CO₂'li ve nemli ortamda iyi üreme gösterir. Katı ortamda agar içine gömülü olan mikro koloni eğik olarak aydınlatıldığında umbonat görünümünde, stereoskopik mikroskopla incelendiğinde "sahanda yumurta" şeklinde görülür (Aydın ve ark., 2006; Nicholas ve ark., 2008; Anonim, 2015; Quin ve ark., 2016). *Mycoplasma* kolonilerini, penisilin ve buna benzer maddelere maruz kalarak hücre duvarı sentezi engellenmiş olan bakterilerin oluşturdukları L formlarından ayırmak için Dienes boyama yöntemi kullanılabilir. Dienes boyasıyla boyanan L formu koloniler 15 dakikada dekolore olurken *Mycoplasma* kolonileri dekolore olmaz. Antibakteriyel madde içermeyen ortamda ise L formu koloniler ait olduğu etkenin koloni morfolojisini gösterirken, *Mycoplasma* kolonileri görünümünü korurlar. *Mycoplasma* etkenleri embriyolu yumurtalarda ve hücre kültürlerinde de üretilebilir (Aydın ve ark., 2006).

Sıvı ortamdaki üreme ışığa karşı iyi incelenmelidir. Bakteriyel kontaminasyon 24 saat içerisinde belirgin bulanıklık olarak görülür. *Mycoplasma*'ların üremesi 3-5 gün arasında değişebilmektedir. Genellikle 'opalescence' olarak tanımlanan hafif bir bulutlanma olarak görülür. Özellikle *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae* örneğinde, büyümeyi görmek için ekim yapılmamış broth ile karşılaştırma gerekebilir. *M. mycoides* subsp. *mycoides* (Mmm) sıvı besiyerinde iyi gelişir ve sarsıldığında genellikle tüpün dibinden dönmeler oluşur. *M. putrefaciens*'i diğer *Mycoplasma*'lardan ayıran özelliği, sıvı besiyerinde oluşturduğu çürüme kokusudur (Nicholas ve ark., 2008).

M. mycoides kültürleri 37 °C'de 45 gün, 0-5 °C'de 98 gün, -20 °C'de 6-12 ay canlı kalabilirler. Etkenler ultraviyole ışınlarına ve metilen mavisinin fotodinamik etkisine dayanıklıdır (Aydın ve ark., 2006). *M. agalactiae* yüksek sıcaklığa duyarlıdır. 100 °C'de 1 dakikada ve 60 °C'de 5 dakika içinde inaktive olur. Sıcak yaz aylarında doğrudan güneş ışığına maruz bırakılarak etkisiz hale getirilebilir. 8 °C'de 4 aya kadar ve oda sıcaklığında bir veya iki hafta boyunca hayatta kalabilir. Organizmanın virulansı -20 °C'de 8 ila 9 ay devam eder. Ayrıca ultraviyole radyasyona karşı hassastır. Kloramin, potasyum hidroklorür ve formalin gibi yaygın

olarak kullanılan dezenfektanlarla 15-20 dakika içinde yok edilir (Bergonier ve ark., 1997; Tsaknakis ve ark., 1992).

Mycoplasma türlerinin idendifikasyonunda glukoz fermentasyonu, fosfotaz aktivitesi, arginin hidrolizi ve tetrazolium redüksiyonu gibi biyokimyasal testler kullanılır. *Mycoplasma* gibi Mollicutes sınıfında yer alan *Acholeplasma* ve *Ureaplasma*'lardan üreaz ve digitonin duyarlılık testleriyle ayrılır (Aydın ve ark., 2006). *M. agalactiae*'nin C8-esteraz aktivitesinden yararlanan hızlı ve pratik bir biyokimyasal test bildirilmiştir (Khan ve ark., 2004). *Mycoplasma*, kromojenik substrat olan 4-[2-(4-octanoyloxy-3,5-dimethoxyphenyl)-vinyl]-quinolinium-1-(propan-3-yl carboxylic acid) (SLPA-octanoate; C8 yağ asidinden oluşturulan yeni sentezlenmiş bir ester ve bir fenolik kromofor) eklenen agarda 1 saat içinde kırmızı koloniler oluşturur. *M. agalactiae* ve *Mycoplasma bovis*'i ayırmada biyokimyasal testler yetersizdir. Her ikisi de arjinin hidrolize etmez, glukozu fermente etmez, piruvat ve laktat gibi organik asitleri kullanarak brothda turbidite oluşturmadan turuncu renk oluşturur, lipolitik aktivite sonucu besiyerinde film ve spot oluşturur, etanolü oksidize eder. *M. agalactiae* ve *M. bovis*'i ayırmak için anamnez önemlidir ve hızlı bir şekilde ayırabilmek için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kullanılabilir (Khan ve ark., 2001; OIE 2008).

Tablo 1.1. Bazı *Mycoplasma* türlerinin biyokimyasal özellikleri (Nicholas ve ark., 2008)

<i>Mycoplasma</i> spp.	Glukoz Fermantasyonu	Arjinin Hidrolizi	Fosfataz Aktivitesi	Film Spot	Kazeini Eritme	Tetrazolium Aerobik / Anaerobik	Redüksiyon
<i>M. agalactiae</i>	-	-	+	+	-	+	+
<i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i>	+	-	-	-	+	+	+
<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i>	+	+	+	-	+	+	+
<i>M. putrefaciens</i>	+	-	+	+	-	Zayıf reaksiyon	+
<i>M. mycoides</i> LC	+	-	-	-	+	+	+
<i>M. ovipneumoniae</i>	+	-	-	-	-	Zayıf reaksiyon	+
<i>M. arginini</i>	-	+	-	-	-	-	+
<i>M. conjunctivae</i>	+	-	-	-	-	-	+

1.2. Epidemiyoloji

Mikroorganizmalar, göz ve burun akıntıları, süt, dışkı, idrar, eklem sıvıları, enfekte hayvanların açık yaraları ve ürogenital sistem enfeksiyonu olan erkek hayvanlar yoluyla yayılır. Kontamine olmuş eller veya sağım ekipmanları vasıtasıyla meme başı enfekte olur. Kontamine süt veya kolostrum yeni doğan hayvanların enfekte olmasına sebep olur. Hastalık ilkbaharda kuzuların doğumuyla birlikte laktasyondaki koyunlarda ani yayılım gösterir (Real ve ark., 1994; Lambert ve ark., 1998; Kusiluka ve ark., 2000). Hastalık, bir sonraki laktasyon döneminde, hatta yıllar sonra da ortaya çıkabilir. Uygun önlemler alınmadıkça, birkaç ay sürebilir (Mattson ve ark., 1991; Bergonier, 1996). Epidemiyolojik olarak hastalığın erken teşhisi önemlidir. Hastalık etkeni 12 aydan 8 yıla kadar sütle yayılır ve bu sürede klinik semptomlar çok hafif seyreder veya görülmeyebilir (Damdinsuren, 1989; Bhaumik ve ark., 1990; Pooladgar ve ark., 2013).

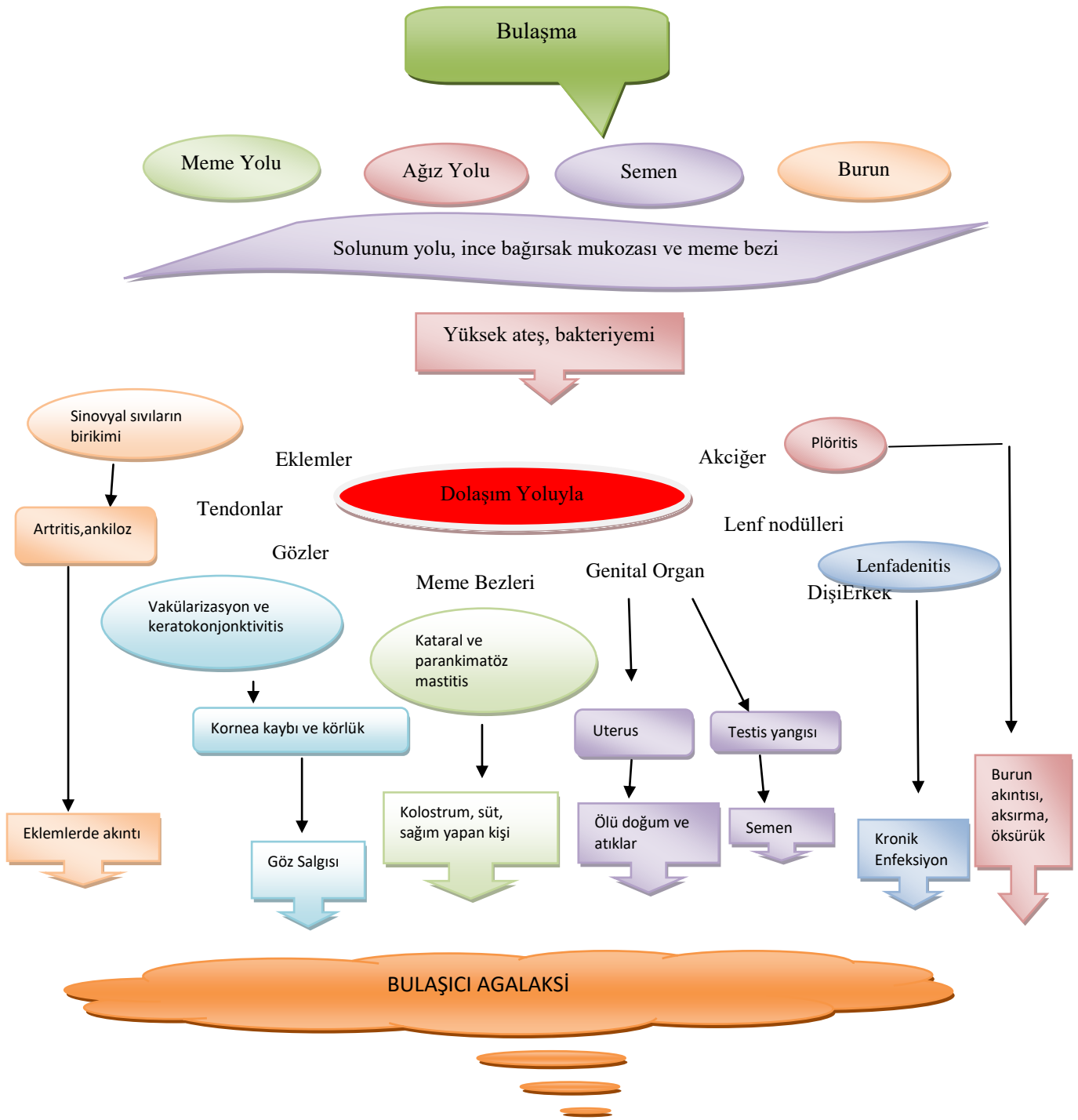
Hastalık belirtisi göstermeyen taşıyıcı hayvanlar sürü sağlığı için ciddi bir risk oluşturmaktadır. Hastalık etkeni bu hayvanların üreme sisteminde yoğunlaşmıştır. Etken keçilerin dış kulak kanalında bulunabilir (Damdinsuren, 1989). Dış kulak kanalı, kan dolaşımının az olması ve bağışıklık sisteminin iyi çalışmaması nedeniyle etken için mükemmel bir yerdir (Bridre ve Donatien, 1923; Pooladgar ve ark., 2013). Çalışmalar, inek, deve ve küçük ruminantlar gibi diğer hayvan türlerinin *M. agalactiae* için enfeksiyon rezervuarları olabileceğini göstermiştir (Pooladgar, 2002). Antikorlar, hastalığın başlamasından sonra keçilerin kanında 8 yıl ve koyunların kanında 3 yıldan fazla bulunur (Tola ve ark., 1994).

1.3. Patogenez

Küçük ve büyük ruminantlardan 30'u aşkın *Mycoplasma* türü izole edilmiştir (Nicholas ve ark., 2008). *Mycoplasma* lar, hayvan ve insanların intestinal ve genital sisteminde, konjunktiva, burun boşluğu, orofarinksin mukoza yüzeylerinde bulunur. Bazı patojenik *Mycoplasma* türleri eklem ve seröz boşlukları çevreleyen mezenseşimal hücrelere affinite gösterir. Solunum kanalı ve akciğerlere yerleşen *Mycoplasma*

türleri burada bulunan siliar aktiviteyi bozar ve bakteriyel enfeksiyonlara duyarlılığı arttırır. *Mycoplasma*'lar patojenite için konakçı hücrelere yapışırlar. Konakçı hücrelerin ölümüne sebep olan ve enfeksiyonların kronikleşmesinde rol oynayan proteaz, hemolizin, hidrojen peroksit ve diğer toksik maddeleri sentezlerler. *Mycoplasma*'ların önemli bir virulans özelliği yüzey proteinlerinde değişikliktir. Çünkü organizmanın konakçı hücreye hızla adapte olmasına ve gelişen bağışıklık tepkisinin ortadan kalkmasına neden olur. Bazı *Mycoplasma* türlerinin biyofilm üretme özelliği vardır. Bu da bazı hayvanlarda antimikrobiyal ajanlarla tedaviyi zorlaştırır. Buna ek olarak yaş, stres ve diğer faktörler enfeksiyonun şiddetini arttırabilir (Aydın ve ark., 2006; Quin ve ark., 2016).

M. agalactiae oda sıcaklığında nispeten stabildir ve genel olarak oral, solunum ve meme yolu ile bulaşır. Nazal sekresyonlardan, dışkı örneklerinden, süt ve atık fetustan izole edilmiştir (Srivastava, 1982; Da Massa ve ark., 1992; Amores ve ark., 2010; Hasso ve ark., 1993; Kinde ve ark., 1994; Da Massa, 1983b; Kumar ve Chandiramani, 1987). Enfeksiyon başladığında bakteriyemi ile birlikte ateş görülür. Daha sonra etken, akciğerler, lenf düğümleri, gözler, meme bezleri, eklemler ve tendonlar gibi farklı hayati organlara dolaşım yoluyla yayılır (Razin ve ark., 1998; Kızıl ve Özdemir, 2006). Etkenin meme bezlerinin bağ dokusunu etkilemesiyle yangı oluşur ve sonrasında atrofiyle sonuçlanan kataral veya parankimatöz mastitis gelişir (Srivastava, 1982; Jones, 1989). Mastitisli hayvanlar, kolostrum veya süt yoluyla enfeksiyonu yavrulara bulaştırır (Nicolet, 1994). Genel olarak, *M. agalactiae* enfeksiyonlarında, akciğer lezyonları görülebilir. Sinovyal sıvıların birikimi eklemlerde ağırlı bir şişkinliğe neden olur ve bu daha çok karpal ve tarsal eklemlerde artritise yol açar. Kronik vakalarda ankiloz görülebilir. Gözde ciddi kornea zararı, vaskülarizasyonun bozulması ve keratokonjonktivit nedeniyle körlük gelişebilir (Kızıl ve Özdemir, 2006; Real ve ark., 1994; Kwantes ve Harby, 1995; Mega ve ark., 1983). Erkek hayvanlarda testislerde yangı olabilir. Gebe hayvanlarda uterus yangısına bağlı olarak, abort veya ölü doğumlar görülebilir. *M. agalactiae*'nın, keçilerde granüler vulvovajinit ile de ilişkisi gözlenmiştir (Razin ve ark., 1998; Zavagli, 1951). *M. agalactiae* enfeksiyonu her türlü klinik tablo ve metabolik değişikliğe rağmen, keçilerde anemi veya septisemi oluşturmaz (Kızıl ve Özdemir, 2006).



Şekil 1.1. Bulaşıcı agalaksi'nin bulaşma ve patogenezi (Kumar ve ark., 2014)

1.4. Klinik Belirtiler

Enfeksiyonlarda kuluçka süresi, mikroorganizmaların giriş yoluna, sayısına, virülansına ve hayvanın bağışıklık durumuna bağlı olarak birkaç günden birkaç haftaya ve hatta iki aya kadar değişir (Razin ve ark., 1998). Kolostrum ile yeterli antikor alamamış, zayıf, yetersiz beslenmiş genç hayvanlar ve immün sistemi baskılanmış, nakil, gebelik ve kötü iklim koşulları gibi stres faktörlerine maruz kalan hayvanlar hastalıktan sıklıkla etkilenir. Bu gibi koşullara bağlı olarak, *M. agalactiae*'nin akut, subakut veya kronik bir hastalık seyri görülebilir. Bazı hayvanlarda atipik veya asemptomatik formlar da rapor edilmiştir (Bergonier ve ark., 1996a; Nicolet, 1994; Bergonier ve ark., 1996b; Zendulkova ve ark., 2007). Hastalık genellikle *M. agalactiae* ile kronik seyrederken, *Mycoplasma mycoides* Large Colony, Mcc ve *M. putrefaciens* keçilerde akut veya perakut solunum yolu enfeksiyonu olarak kendini gösterir. Hastalığın akut evresindeki hayvanlar, septisemi benzeri genel bir rahatsızlık gösterirler. Hayvanlarda 41 °C'nin üzerinde yüksek ateş görülebilir, halsizlik ve iştahsızlık olabilir. Hasta hayvanların çoğunda şiddetli mastitis gelişir, bunu artrit ve keratit takip eder, bazılarında ise herhangi bir belirti görülmeden ölüm görülebilir. Gebe hayvanlarda abortlar görülebilir. *M. putrefaciens*'in neden olduğu salgınlarda, etkilenmiş olan hayvanlarda ve yavrularda ateş görülmez (Mercier ve ark., 2001).

Bulaşıcı agalaksi'nin ana hedef organı meme bezidir. Süt, renksiz ve granüler hale gelebilir ve meme kanalını tıkayabilecek süt pıhtıları ile yoğun bir kıvama kavuşabilir. Meme sıcak, şişkin ve hassastır. Bulaşıcı agalaksi'nin sonraki aşamalarında fibrozis nedeniyle meme atrofileri görülebilir. Mastitis durumunda etken süttten izole edilebilir.



Şekil 1.2. Bulaşıcı agalaksi hastalığının klinik belirtileri (a) Artritisi (b) Mastiti (c) Keratokonjunktiviti (d) Zayıflama ve ölüm (e) Öksürükten dispneye kadar değişen solunum sistemi belirtileri (f) Sporadik veya salgın şekilde abortlar (Gomez-Martin ve ark., 2013).

Artritisi veya poliartritişinin şiddeti, sinovyal sıvının birikmesiyle şişmiş olan tarsal ve karpal eklemlerin sertleşmesinden şiddetli topallığa kadar değişebilir. Bu sıvı genellikle serumdan daha yüksek titrede spesifik antikor ve hastalık etkeni olan *Mycoplasma*'ları içerir (Nicholas, 2002).

Oküler lezyonlar konjunktivitis, konjesyon, lakrimasyon ve fotofobi ile başlar, ardından korneada, inflamatuvar odaklar ve parankimatöz keratitisin vaskülarizasyonu takip eder. Şiddetli vakalar körlüğe yol açabilir.

Bulaşıcıagalaksi vakalarında özellikle genç hayvanlarda, pnömoni de bildirilmiştir. Etkilenen dişilerden doğan yavruların ataksik olduğu bildirilmiş, bu durumun muhtemelen septisemi veya *Mycoplasma*'ların beyinde neden olduğu nonpurulent ensefalomyelit ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Nicholas ve ark., 2008).

1.5. Teşhis

Bir sürü ciddi şekilde enfekte olduğunda, en belirgin üç semptom olan mastitis, artritis ve keratokonjunktivitis görülür ve klinik teşhis kolaydır. Bununla birlikte, spesifik semptomlar olmadan septiseminin olduğu akut bir form, klinik teşhisi zorlaştırabilir. Hastalığın nedenini doğrulamanın tek yolu laboratuvar tanısıdır. Burun sıvapları, süt, eklem sıvısı, göz sıvabı ve antikor tespiti için kan ve zengin patojenik *Mycoplasma* kaynağı olan kulak kanalından sıvap teşhis için alınabilecek numunelerdir (Nicholas and Baker, 1998; Nicholas ve ark., 2008). *Mycoplasma*'lar, septiseminin geliştiği hastalığın akut aşamasında kandan izole edilebilir, ancak bu nadir ve geçicidir. Ölen hayvanlardan numune olarak meme bezleri ve ilişkili lenf düğümleri, eklem sıvısı, sağlıklı ve hastalıklı dokunun bir arada olduğu akciğer lezyonları ve pleural veya perikardiyal sıvı alınabilir. Numuneler aseptik koşullarda, nemli ve soğuk bir ortamda hızlı bir şekilde laboratuvara gönderilmelidir (Nicholas ve ark., 2008; Kızıl ve Özdemir, 2006).

Tablo 1.2. Küçük ruminantlarda *Mycoplasma* izolasyon ve identifikasyonu için alınacak numuneler (Nicholas ve ark., 2008)

Etken	<i>İn vitro</i> Büyüme	Hayvan Türü	Canlı Hayvandan Numune	Ölü Hayvandan Numune
<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capripneumoniae</i>	Nazlı	Keçi	Burun ve kulak sıvabı	Akciğer lezyonu, pleura sıvısı, mediastinal lenf nodülü
<i>M. agalactiae</i>	İyi	Koyun/Keçi	Süt, eklem sıvısı, göz, burun ve kulak sıvabı	Meme ve ilişkili lenf nodülleri, eklem sıvısı, akciğer lezyonu, beyin
<i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i> /LC	İyi	Keçi	Süt, eklem sıvısı, göz ve burun sıvabı	Meme ve ilişkili lenf nodülleri, eklem sıvısı, akciğer lezyonu
<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i>	İyi	Keçi/Koyun	Süt, eklem sıvısı, göz ve burun sıvabı	Meme ve ilişkili lenf nodülleri, eklem sıvısı, akciğer lezyonu
<i>M. conjunctivae</i>	Nazlı	Koyun, Keçi, Yabani Küçük Ruminantlar	Göz sıvabı	Göz sıvabı
<i>M. putrefaciens</i>	İyi	Keçi	Süt	Meme ve ilişkili lenf nodülleri
<i>M. ovipneumoniae</i>	değişir	Koyun/Keçi	Burun sıvabı, burun akıntısı, bronkoalveolar yıkantı, pleura sıvısı	Akciğer lezyonları, pleura sıvısı, bronkopulmoner lenf nodülü

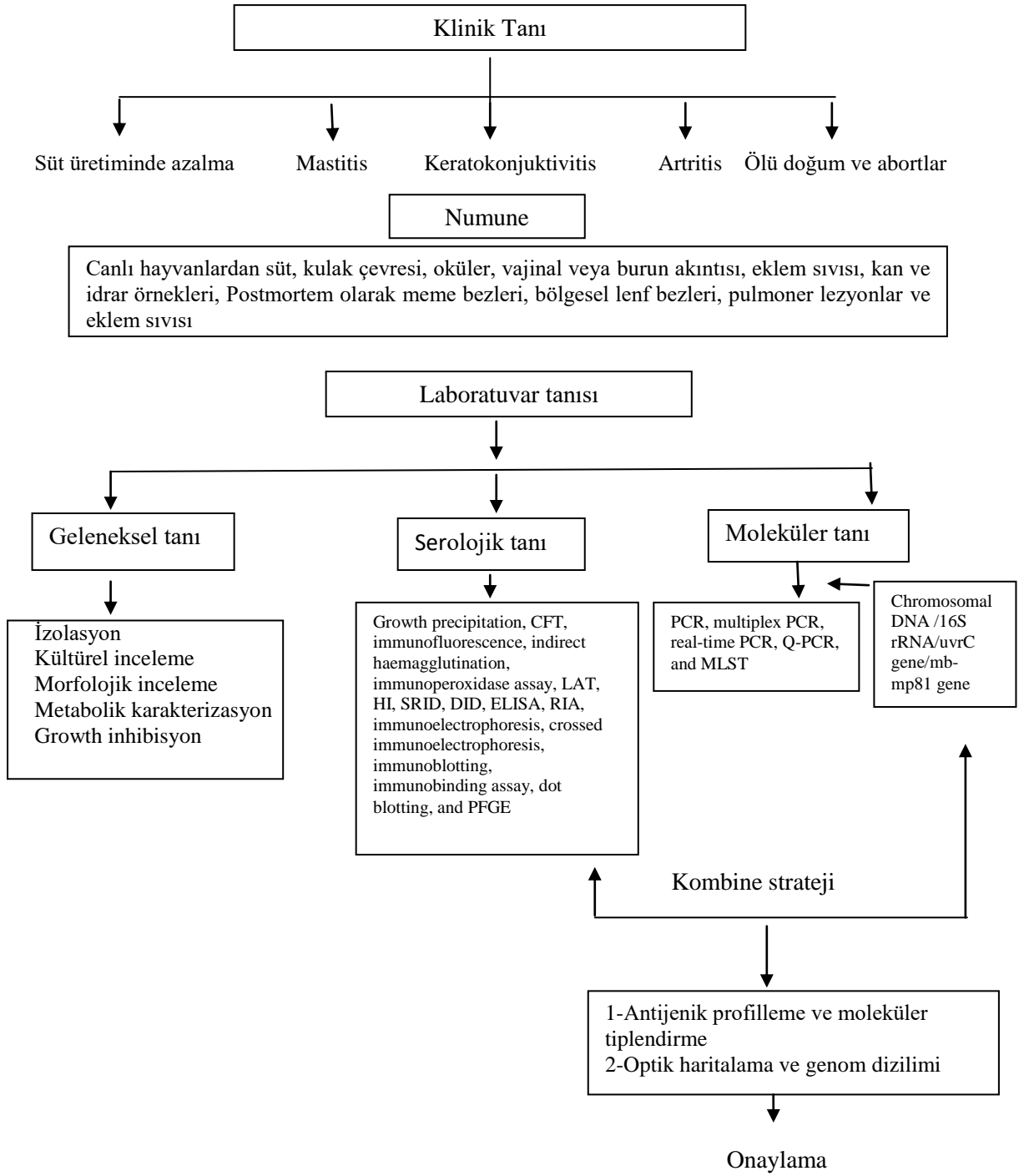
M. agalactiae, glikozu fermente edemez ve arginini kullanamaz. Bu biyokimyasal özelliğiyle diğer Bulaşıcı agalaksi'ye neden olan *Mycoplasma*'lardan, ayırt edilebilir. *M. agalactiae* ayrıca katı veya sıvı ortam yüzeyinde fosfolipit üreterek yağlı bir film ve spot oluşturur. *M. putrefaciens*, hem broth hem de yarı katı kültürlerde ve etkilenen hayvanlardan alınan sütte kötü bir kokuya neden olur (Nicholas ve ark., 2008). Morfoloji, üreme ve metabolik benzerlik yönünden diğer *Mycoplasma*'larla benzerlik gösterebileceğinden (Poveda, 1998; Poveda ve Nicholas, 1998) biyokimyasal testlere dayanan izolatların karakterizasyonu genellikle önerilmemektedir (Kumar, 2000; Kumar ve ark., 2011).

M. agalactiae tespiti için önem taşıyan serolojik testler arasında growth presipitasyon (GP), immünofloresans (IF), komplement fiksasyon testi (CFT), indirekt hemagglütinasyon (IHA), hemagglütinasyon inhibisyon (HI), aglütinasyon,

lateks aglütinasyon testi (LAT), doble immünodifüzyon (DID), single radial immünodifüzyon (SRID), enzim linked immünosorbent assay (ELISA), radyo immunoassay (RIA), ve immunoperoksidaz (IP) gibi testler yer almaktadır (Edward, 1953; Poumarat ve ark., 2012; Kumar, 2000; Gomez Martin ve ark., 2012; Kumar ve ark., 2011; Campbell ve Turner, 1936). Bunlar ayrıca jel elektroforezi, immünoelektroforez (IEP), counter-current immünoelektroforez (CCE) ve çapraz immünoelektroforez gibi birçok elektroforetik tekniği içerir (Kumar, 2000; Kumar ve Singh, 2011; Cho ve Langford, 1974; Erdağ ve Cottew, 1971). Antijenik özelliği göstermek için tavşandan elde edilen monospesifik hiperimmün serumların kullanıldığı immüno blotting yöntemi uygulanmıştır (Kumar ve ark., 2014). Bu yöntemlerin dışında, protein antijenlerini ayırmak için poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE), sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE), iki boyutlu immünoelektroforezi, western blot, dot blot ve immunobinding testleri geliştirilmiş ve keçilerde Bulaşıcıagalaksi teşhis edilmeye çalışılmıştır (Gummelt ve ark., 1996; Kumar ve ark., 2012; Kumar ve Singh, 2011; Poumarat , 1998; Tola ve ark., 1997). Bununla birlikte, *M. agalactiae*'nin teşhisinde etkenin tanımlanmasındaki zorlukların üstesinden gelmek için, her *Mycoplasma* türüne karşı, komplement fiksasyon testi (CFT) veya monoklonal antikor bazlı ELISA teknikleri veya gen amplifikasyon teknikleri kullanılabilir (Bergonier ve ark., 1996a; Bergonier ve ark., 1996b; Zendulkova ve ark., 2007; Lambert ve ark., 1998). Saha vakalarından *M. agalactiae*'ye bağlı Bulaşıcıagalaksinin teşhisi için serolojik testler etkili bir şekilde kullanılmıştır, ancak bu testlerin genel olarak olgunlaşmamış antijenlere bağımlı olması, testlerin spesifitesini ve hassasiyetini olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle, bu testlerin çoğu, ortak antijenlerin varlığı nedeniyle *Mycoplasma* türleri arasında ayırım yapamamaktadır (Kumar, 2000; Gummelt ve ark.,1996; Nicholas, 2002; Kumar ve ark., 2011). *M. agalactiae* ve *M. mycoides* (LC) ve diğer birçok ilgili türün ayırıcı teşhisi için monoklonal antikor ile birlikte rekombinant protein bazlı ELISA testi tanımlanmıştır (Bergonier ve ark., 1996a; Bergonier ve ark., 1996b; Zendulkova ve ark., 2007; Lambert ve ark., 1998). Bulaşıcıagalaksiden etkilenen küçük ruminantlarda, ELISA aktivitesi ile ve çeşitli diğer serolojik testler arasında yapılan korelasyon çalışmaları, ELISA testinin etkenin neden olduğu subklinik enfeksiyonu tespit etme ve keçi sürülerindeki taşıyıcı hayvan varlığını gösterme yeteneğini ortaya

koymuştur (Poumarat ve ark., 2012; Levisohn ve ark., 1991). OIE kurallarına göre, ELISA, CFT ve immünoblotting testleri standart serolojik testlerdir (OIE, 2018).

PCR yöntemi birçok laboratuvarında rutin olarak kullanılmaktadır ve oldukça hassastır. Klinik örneklerde yapıldığında hızlı bir erken teşhis imkanı sağlayabilir (Tatay Dualde ve ark., 2015). *M. agalactiae* için spesifik birkaç PCR yöntemi geliştirilmiştir ve bunlar farklı gen dizilerine dayanmasına rağmen benzer seviyelerde hassasiyet gösterirler (Dedieu ve ark., 1995; Tola ve ark., 1997; Subrahmaniam ve ark., 1998). Doğrudan burun ve göz akıntısı, sinovyal sıvı, doku örnekleri ve sütte kullanılabilirler. Süt örneklerinde yapılan testlerde (Tola ve ark., 1997), bazen bilinmeyen inhibitörler ile etkileşime girebilir. PCR ayrıca kültürde üreyen *Mycoplasma*'lar üzerinde daha güvenilir bir şekilde kullanılabilir. Bakteriyel kontaminasyon varlığında bile *Mycoplasma*'nın 24 saatlik zenginleştirilmesi, PCR ile teşhisi kolaylaştırır (Nicholas, 2002). *M. agalactiae*'nin süt numunelerinde saptanması için İmmünomanyetik PCR yöntemlerinin kullanılması, kültür zenginleştirme işleminden daha hızlı sonuç verir (Sanna ve ark., 2014). Denatüre gradyan jel elektroforezi (DGGE) ve *Mycoplasma*'ya özgü primerleri kullanan PCR bazlı bir yöntem, Bulaşıcı agalaksin de dahil olduğu tüm küçük ruminant *Mycoplasma*'larını, göç paternlerine göre belirleyebilmektedir (McAuliffe ve ark., 2005). *M. agalactiae*'nin saptanması için izotermal PCR yöntemleri uygulanabilir ve tarif edilmiştir (Rekha ve ark., 2015). Özellikle daha önce Bulaşıcı agalaksi görülmemiş bir bölgede pozitif bir PCR sonucu alınırsa, *Mycoplasma*'nın izolasyon ve identifikasyonu standart prosedürler kullanılarak doğrulanmalıdır. Sırasıyla, Mmc (Bashiruddin, 1998) ve Mcc (Monnerat ve ark., 1999) ve *M. putrefaciens* (Nicholas ve ark., 2008; Peyraud ve ark., 2003) için ayrı ayrı PCR testleri bildirilmiştir. Ek olarak, *M. agalactiae*, Mcc ve Mmc'yi aynı anda tespit edebilen bir multipleks PCR testi tanımlanmıştır (Greco ve ark., 2001). Cillara ve arkadaşları (2015), Mmc ve Mcc arasında ayırım yapmak için *lpdA* genini temel alan bir PCR ve restriction fragment length polymorphism PCR (RFLP-PCR) yöntemini tarif etmiştir.



Şekil 1.3.Bulaşıcı agalaksi hastalığının teşhisi (Kumar ve ark., 2014).

1.6. Tedavi ve Kontrol

Bulaşıcı agalaksi çeşitli vücut salgılarının atılımıyla hızlı bir yayılım gösterebilir. Bu nedenle, enfeksiyona zamanında ve hızlı müdahale, enfeksiyonun yayılmasının önlenmesi ve kontrolü için çok önemlidir (Kumar ve ark., 2012).

Kuzey Ürdün'de 2002-2003 yılları arasında 100'den fazla küçük koyun ve keçi sürüsünde Bulaşıcı agalaksi enfeksiyonu ile ilişkili risk faktörlerini incelemek için bir çalışma yapılmıştır (Al-Momani ve ark., 2007). Üretim ve sağlık yönetimi uygulamaları da dahil olmak üzere toplam 31 değişken seropozitif sürü için risk faktörleri yönünden test edilmiştir. Sonuç olarak diğer çiftliklerden getirilen koçlar, uygun şekilde temizlenmeyen sağım aletleri ve genç hayvanların klinik olarak etkilenen annelerden ayrılmamasının hastalık riskini artıran faktörler olduğu tespit edilmiştir (Nicholas ve ark., 2008).

İyi yönetim uygulamalarının benimsenmesi ve patojen için koyun ve keçi sürülerinin serum ve sütleri seroloji, kültür ve PCR ile düzenli olarak izlenmesi hastalığın bulaşmasını ve yayılmasını önlemeye yardımcı olur. Çoğu zaman subklinik olarak enfekte olan hayvanlar enfeksiyonu yayar. Bu nedenle erken teşhis için her zaman spesifik, hassas ve hızlı teşhis prosedürü uygulamasına ihtiyaç vardır. Şüpheli hayvanlar, sonuçlar çıkana kadar diğer hayvanlardan ayrı olarak gözlem altında tutulmalıdır. Hastalıktan arı ülke ve bölgelerde doğrulanmış enfekte sürü itlaf edilir. Hastalığın pozitif çıkması durumunda en kısa sürede temas eden ve etkilenen hayvanların sürüden çıkarılması önerilir. Bunun mümkün olmadığı durumlarda, yavruları beslemeden önce süt sağım hijyeni uygulaması ve sütün pastörize edilmesi gibi hijyen önlemleri uygulanmalıdır. İşletme ve kullanılan alet ve ekipmanların sterilizasyonu ve atık maddelerin uygun şekilde imha edilmesi sağlanmalıdır. Yaygın kullanılan kuarternler amonyum bileşikleriyle birlikte hipoklorik asit, formalin, kresoller ve fenolik maddeler gibi dezenfektanlar etkene karşı etkilidir (Kumar ve ark., 2012; Nicholas ve ark., 2008).

Hücre duvarı sentezini inhibe eden penisilin gibi antibiyotikler Bulaşıcı agalaksi'ye karşı etkili değildir. Tetrasiklinlerin ve makrolidlerin kullanımı bazen

linik iyileşme sağlar, ancak her zaman taşıyıcı hayvanların oluşma tehlikesi vardır. Ayrıca, eritromisin ve tilosin kullanımı, küçük geviş getiren hayvanlarda süt üreten dokunun tahrip olmasına yol açabilir. Sicilya'nın endemik bölgelerinde *M. agalactiae* suşları için yapılan *in vitro* antibiyotik değerlendirilmesinde spiramisin için yüksek ortalama Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri görülmesine rağmen, hiçbir direnç bulgusu göstermemiştir (Loria ve ark., 2003). Ancak, süttten izole edilen suşlar bazen oksitetrasiklinler için oldukça yüksek değerler göstermiştir. Genel olarak, enrofloksasin en düşük ortalama değerleri vermiş, ancak hayvanlarda bu florokinolonların insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri nedeniyle yaygın kullanımı konusunda endişeler vardır (Nicholas ve ark., 2008).

1.7. Korunma

M. agalactiae'ye bağlı Bulaşıcı agalaksi hastalığının önlenmesi için Avrupa, Batı Asya ve Akdeniz ülkelerinde aşılar yaygın olarak kullanılmaktadır. Evrensel olarak kabul edilen bir aşı yoktur ve standart bir hazırlama ve değerlendirme yöntemi uygulanmamaktadır (OIE, 2018).

M. agalactiae için canlı aşıların kullanılmadığı Avrupa'da, çoğunlukla formalin ve yağ emülsiyonunda alüminyum hidroksit gibi bir adjuvan kullanılarak inaktive edilmiş organizmaların kullanıldığı aşılar üzerine yoğunlaşmıştır. *M. agalactiae*, Mcc ve Mmc içeren trivalan ticari aşılar mevcuttur ancak etkinlikleri hakkında az veri vardır. Laktasyondaki koyunlarda yapılan küçük bir deneyde formalin ile inaktive edilmiş bir yağ emülsiyon aşısının, immünojenik ve koruyucu olduğu ve ayrıca *M. agalactiae*'nin bulaşmasını önlediği gösterilmiştir (Greco ve ark., 2002).

Bazı durumlarda, aşılamaya rağmen görülen koruma eksikliğinin, hayvanların Bulaşıcı agalaksi'ye neden olan diğer dört *Mycoplasma* türünden biri ile enfekte olmasından kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Gil ve ark., 1999).

İstanbul Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'nde yapılan *M. agalactiae* ve *M. mycoides* LC'nin neden olduğu Bulaşıcı agalaksi için canlı atenüe edilmiş aşılar, Türkiye'de uzun yıllardan beri kullanılmakta olup, inaktif aşılara göre koyunlarda ve kuzularda daha iyi koruma sağladıkları bildirilmiştir (Turkaslan, 1990). Ancak canlı aşılar hayvanlarda geçici bir enfeksiyon oluşturabildikleri için emziren hayvanlarda kullanılmamalıdır ve hayvanların temas ettiği tüm sürülerinin aynı anda aşılanacağı bölgesel bir aşılama planı yapılmalıdır (OIE, 2018).

Mmc için aşuların mevcudiyeti hakkında çok az yayınlanmış bilgi bulunmasına rağmen (Marogna ve ark., 2015), inaktive edilmiş aşuların pek çok Akdeniz ülkesinde ve Asya'da yaygın olarak kullanılması bu aşuların üretim ve kullanımının lokalize olduğunu düşündürmektedir (Bergonier ve ark., 1997). Hindistan'da güçlü bir antikor cevabı oluşturan ve bir miktar koruma sağlayan saponize aşular rapor edilmiştir (Sunder ve ark., 2002).

Mcc ve *M. putrefaciens* enfeksiyonları ciddi olsa da, prevalansı göreceli olarak düşüktür ve beklendiği gibi, bu enfeksiyonlar için koruyucu aşılama konusunda çok az araştırma yapılmış veya hiç çalışma yapılmamıştır (OIE, 2018).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Etik Kurul İzin Belgesi

Tez çalışması sırasında hayvanlardan alınan süt, eklem sıvısı, göz, kulak ve burun sıvı örnekleri için gerekli izin Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 14/02/2018 tarih ve AKÜHADYEK-01-18 Referans No'lu araştırma kararı ile onaylanmıştır.

2.1.2. Hayvan materyali

Bu çalışmada Isparta ve Afyonkarahisar Yöresinde bulunan 220 adet küçükbaş hayvan işletmesinde bulunan 45.500 adet keçi ve koyun tarandı. Mastitis, keratokonjunktivitis, topallama, eklemlerde şişlik, yavru atıkları, burun akıntısı, pnömoni bulgularının görüldüğü 21 adet küçükbaş hayvan işletmesinden 139 adet keçi, 56 adet koyun, 3 adet oğlak, 2 adet teke, 2 adet kuzu olmak üzere toplam 202 adet hayvandan 91 adet süt numunesi, 28 adet burun sıvabı, 101 adet göz sıvabı, 8 adet eklem sıvısı, 61 adet kulak sıvabı olmak üzere toplam 289 adet numune alındı. Soğuk zincirde en kısa sürede laboratuvara ulaştırıldı.

Tablo 2.1. Çalışma yapılan işletme, hayvan ve numune sayıları

Taranan İşletme Sayısı	Taranan Hayvan sayısı	Numune Alınan İşletme Sayısı	Numune Alınan Hayvan Sayısı	Numune Sayısı
220	45.500	21	Keçi 144 Koyun 58	Süt 91 Göz sıvabı 101 Kulak sıvabı 61 Burun sıvabı 28 Eklem sıvısı 8

Süt örnekleri

Sütteki değişimler ve mastitis olgusu gözlenen koyun ve keçilerden meme ve meme başı %70'lik alkol ile temizlenip meme ucundaki ilk süt atıldıktan sonra steril tüplere süt örnekleri alındı. Örneklerin soğuk zincirde en kısa sürede laboratuvara ulaşması sağlandı.

Göz, kulak ve burun sıvıpları

Hayvanların göz, kulak ve burun boşluğundan steril pamuk sıvıplar kullanılarak örnekler alındı ve Hayflik's transport besiyeri kullanılarak soğuk zincirde en kısa sürede laboratuvara ulaşması sağlandı.

Eklem sıvısı örnekleri

Arthritis bulguları ve topallama görülen hayvanların eklemlerinden steril enjektör ile eklem sıvısı örnekleri alınarak soğuk zincirde en kısa sürede laboratuvara ulaşması sağlandı.

2.1.3. Besiyerleri

2.1.3.1. Mycoplasma Selektif Besiyeri

Alınan süt, eklem sıvısı, göz, kulak ve burun sıvıpları örneklerinden *Mycoplasma* cinsi bakterilerin izolasyonu amacıyla Mycoplasma Agar Base (Oxoid CM0401) ve Mycoplasma Broth Base (Oxoid CM0403), Mycoplasma Selective Supplement-G (Oxoid SR0059C) kullanıldı.

Mycoplasma Broth Base (Oxoid CM0403)

Bacteriological pepton.....	10.0 g/l
'Lab-Lemco' powder	10.0 g/l
Sodium chloride.....	5.0 g/l
Mineral Supplement.....	0.5 g/l

Hazırlanışı: 2,04 gr Mycoplasma Broth Base (Oxoid, CM0403) 80 ml distile su içerisine eklenerek karıştırıldı. Otoklavda 121 °C’de 15 dakika sterilize edildi. 50 °C’ye kadar soğutulup içerisine Mycoplasma Selektif Supplement-G (Oxoid, SR0059C) ilave edildi ve karıştırıldı. Sıvı besiyerleri steril vidalı kapaklı tüplere koyuldu. Sterilite kontrolü için 37 °C’de 1 gün inkübe edildikten sonra, kontaminasyon sonucu üremeye bağlı olarak renk değişimi ve bulanıklık olup olmadığı kontrol edildi. Steril sıvı besiyerleri kullanılıncaya kadar +4 °C’de buzdolabında saklandı.

Mycoplasma Agar Base (Oxoid, CM0401)

Bacteriological pepton.....	10.0 g/l
‘Lab-Lemco’ powder	10.0 g/l
Sodium chloride.....	5.0 g/l
Mineral Supplement.....	0.5 g/l
Agar.....	10.0 g/l

Hazırlanışı: 2,84 gr Mycoplasma Agar Base (Oxoid, CM0401) 80 ml distile su içerisine eklendi. Isıtılıp karıştırarak agarın erimesi sağlandı. pH 7,8±0.2’ye ayarlanan besiyeri otoklavda 121 °C’de 15 dakika sterilize edildi. 50 °C ‘ye kadar soğutulup içerisine 20 ml Mycoplasma Selektif Supplement-G (Oxoid, SR0059C) ilave edildi ve karıştırıldı. Besiyerleri 9 cm çaplı steril petri kutularına döküldü. Sterilite kontrolü için 37 °C’de 1 gün inkübe edildi. Daha sonra besiyerleri kullanılıncaya kadar +4 °C ‘de buzdolabında saklandı.

Mycoplasma Selective Supplement-G (Oxoid, SR0059C)

At Serumu	20 ml
Maya ekstraktı (25 % w/v).....	10 ml
Talyum asetat	25 mg
Penisilin.....	20,000 IU

Hazırlanışı: 1 flakon Mycoplasma Selective Supplement-G içerisine 20 ml steril distile su katılıp homojen hale gelene kadar karıştırıldı. 80 ml olarak hazırlanmış ve 50 °C'ye soğutulmuş olan her bir Mycoplasma broth ve Mycoplasma agar için 20 ml (1 flakon) saplement ilave edildi.

2.1.3.2. Biyokimyasal Test Besiyerleri

Belirtilen formülasyon Mycoplasma Protocols (Miles ve Nicholas, 1998) kitabında bildirildiği gibi yapılmıştır.

Glikoz Fermentasyon Testi Besiyeri

A.

PPLO broth	70 ml
Yeast extract (%25'lik solüsyonu)	10 ml
İnaktive at serumu	20 ml
Kristal penisilin (200 000 IU/ml)	0.5 ml
Thallium acetate % 5	0.4 ml
Glikoz (%50'lik solüsyonu)	1 ml
Phenol red (%1'lik solüsyonu)	0.5 ml

B. Aynı besi yeri glikozsuz olarak hazırlanmıştır.

2.1.4. Çalışmada kullanılan cihazlar

- Hassas terazi (Shimadzu)
- Anoxomat cihazı (Mart Microbiology B.V. Anoxomat AN2CTS)
- İnkübasyon Jarı (Mart Microbiology B.V.)
- Etüv (37 °C) (Nüve İncubator EN 120)
- Stereo Mikroskop (Zeizz Lab.A1 Ax10)
- Derin Dondurucu (Arçelik Çift Kapılı No Frost)
- Buzdolabı (Arçelik Çift Kapılı No-Frost)
- Otoklav (Alp Art Labortechnik Ltd. Şti.)

- Vorteks karıştırıcı (Benchmark)
- Petri kutusu (9 cm çaplı Fıratmed)
- Steril falkon tüp
- Steril tek kullanımlık enjektör
- Steril transport sıvı
- Steril eküvyon çubuğu
- Erlen, beher, mezur v.b. standart laboratuvar cam malzemesi.

2.2. Yöntem

2.2.1. Klinik muayene

Daha önce Bulaşıcı agalaksi şikayeti olmuş sürülerde ve mastitis, keratokonjunktivitis, topallama, eklemlerde şişlik, yavru atıkları, burun akıntısı, pnömoni şikayeti olan sürülerde hayvanların klinik muayeneleri yapıldı. Hastalık şüphesi bulunan hayvanlardan alınan göz, burun, kulak sıvabı, süt ve eklem sıvısı soğuk zincirde, en kısa sürede laboratuvara ulaştırıldı.

2.2.2. İzolasyon

Hastalık şüpheli hayvanlardan alınan göz, burun, kulak sıvımları Hayflik's transport besiyeri içerisinde, eklem sıvısı steril enjektöre çekilerek, süt örnekleri ise steril tüplere alınarak soğuk zincirde en kısa sürede laboratuvara ulaşması sağlandı. Alınan şüpheli örneklerin sıvı besiyerinde 10^{-1} lik dilüsyonları hazırlanarak veya direkt olarak *Mycoplasma* agara ekimleri yapıldı. Petriler $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ de %5-10 CO_2 'li ortamda inkübe edildi. Katı besiyerleri üreme yönünden 2-3 günde bir stereo mikroskop (X5-50 büyütme) ile incelendi. 14 günlük inkübasyon sonunda negatif durumlarda petriler imha edildi. Kolonilerin gözlenmesi durumunda koloni morfolojisi incelendi, koloni içeren kısım blok halinde kesilip sıvı besiyerine pasajı yapıldı (T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2019).

2.2.3. İdentifikasyon

Film ve Spot Oluşumu

Üreme görülen sıvı ve katı besiyerlerinin üst yüzeyinde ince bir tabaka oluşması film, agar içinde kolonilerin ortasında koyu renkli siyah noktacıkların oluşumu spot olarak değerlendirildi ve bu yönde gözlemlendi (T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2019).

Glikoz Fermantasyonu

Elde edilen 24-48 saatlik saf kültürden 0.05 ml miktarda glikozlu ve glikozsuz hazırlanan besiyerine ekim yapıldı. Kontrol olarak ekim yapılmamış glikozlu ve glikozsuz besiyeri kullanıldı. Hazırlanan besiyerleri 24-48 saat, 37 °C’de, nemli ortamda inkübasyona bırakıldı. Ekim yapılmış glikozlu besiyerinde asidik reaksiyona bağlı olarak rengin değişmesi ve kontrol tüpünde değişiklik olmaması pozitif olarak değerlendirildi (Miles ve Nicholas, 1998).

Üreme İnhibisyon Testi (Growth Inhibition Test)

Bu test, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı İstanbul Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü Mycoplasma Referans Teşhis Laboratuvarında yapıldı. Test yapılacak 3 izolata ait saf kültürden pasaj yapılan sıvı besiyeri 48-72 saat inkübe edildi ve 10^{-3} e kadar dilüsyonları hazırlandı. 10^{-1} ve 10^{-3} olmak üzere iki dilüsyon kullanıldı. Hazırlanan Mycoplasma selektif agar bulunan petrilerin arkasına düz ve birbirine paralel iki çizgi çizildi. Dilüsyonlardan 50 µl çizginin bir kenarına bırakıldı, petri eğilerek damlanın çizgi boyunca ilerlemesi sağlandı. Kuruduktan sonra steril bir pastör pipeti yardımıyla ekim hattının ortasından 6 mm çaplı agar parçası çıkarıldı. Oluşan çukura 30–50 µl *Mycoplasma arginini* G-230 antiserum (eşek) ve NCTC 10151 Antiserum (tavşan) *Mycoplasma ovipneumoniae* antiserumları konuldu, oda ısısında kuruduktan sonra petriler ters çevrilmiş şekilde 37 °C’de, % 5 CO₂’li ortamda inkübe edildi. 2-3 günlük süre sonunda çukur etrafında 0.5 mm den büyük inhibisyon zonunun oluşması pozitif olarak değerlendirildi.

Moleküler Çalışmalar

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Bu test, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı İstanbul Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü Mycoplasma Referans Teşhis Laboratuvarında yapıldı. Tablo 2.2’de belirtilen primer dizileri kullanılarak 3 adet izolat için *Mycoplasma agalactiae* PCR uygulandı. İzolatlar, *M. agalactiae* yönünden negatif bulundu.

Tablo 2.2. *Mycoplasma agalactiae* spesifik primer dizinleri

Primer Adı	Dizin	PCR Ürün Büyüklüğü
MAPol-1F:	5'-CATTGAACCTCTTATGTCATTTACTTTG-3'	265 bp
MAPol-5R:	5'-CTATGTCATCAGCTTTTGGGTGA-3'	
Referans: Marendi, M. S., Sagne, E., Poumarat, F. ve Citti, C. (2005). Suppression subtractive hybridization as a basis to assess <i>Mycoplasma agalactiae</i> and <i>Mycoplasma bovis</i> genomic diversity and species-specific sequences. <i>Microbiology</i> 151, 475-489.		

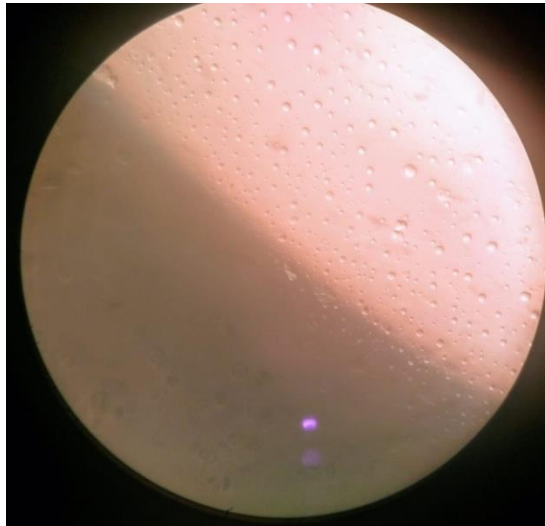
3. BULGULAR

Isparta ve Afyonkarahisar Yöresinde 220 adet küçükbaş hayvan işletmesinde bulunan 45.500 adet küçükbaş hayvan Bulaşıcı agalaksi hastalığı yönünden tarandı. 21 adet küçükbaş hayvan işletmesinden, 139 adet keçi, 56 adet koyun, 3 adet oğlak, 2 adet teke, 2 adet kuzu olmak üzere toplam 202 adet hayvandan, 91 adet süt numunesi, 28 adet burun sıvabı, 101 adet göz sıvabı, 8 adet eklem sıvısı, 61 adet kulak sıvabı olmak üzere toplam 289 adet numune alındı. Çalışmada 28 adet burun sıvabının 3’ünden *Mycoplasma* spp. izole edildi. *Mycoplasma* spp. izole edilen 3 örneğe *Mycoplasma agalactiae* PCR uygulandı ve *M. agalactiae* yönünden negatif bulundu.

Yapılan biyokimyasal testlerde film ve spot oluşumu yönünden negatif olduğu, glikoz fermantasyon testinde ise iki koloninin pozitif, bir koloninin negatif sonuç verdiği görüldü. Koloni morfolojileri incelendi ve yapılan biyokimyasal testler, üreme inhibisyon testi ile 1 (%0,49) etkenin *M. arginini* olduğu tespit edildi ve 2 (%0,99) etkenin merkezsiz koloni morfolojisine sahip *M. ovipneumoniae* olduğu belirlendi. Bulaşıcı agalaksi'ye neden olan dört etkenden hiçbiri izole ve identifiye edilemedi.

Tablo 3.1. İzole edilen *Mycoplasma* spp. identifikasyon çalışmaları sonuçları

<i>Mycoplasma</i> spp.	<i>M. agalactiae</i> PCR	Üreme İnhisyon testi	Film ve spot oluşumu	Glikoz fermentasyonu	Koloni Morfolojisi
<i>M. arginini</i>	-	+	-	-	Merkezli
<i>M. ovipneumoniae</i>	-	+	-	+	Merkezsiz



Şekil 3.1. *M. ovipneumoniae* kolonileri

4. TARTIŞMA

Bulaşıcı agalaksi özellikle Akdeniz havzasında olmak üzere dünyanın birçok bölgesinde görülmektedir. Uluslararası Salgın Hastalıklar Ofisi (Office International Des Epizooties, OIE) tarafından da bildirilmesi zorunlu hastalıklar listesinde yer alır (Sarris, 1996; Tardy ve ark., 2012; OIE, 2019). Yüksek morbiditeye sahip olan ve küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin önemli sorunlarından biri olan hastalık mastitis, artritis, keratokonjunktivitis gibi karakteristik semptomlar göstermesinin yanı sıra pneumoni, abort ve hastalığın sürüdeki ciddi seyirinde kuzu ve oğlak ölümleri de görülebilir. Hastalığın tedavi masrafları ile birlikte ciddi ekonomik kayıplara neden olur (Madanat ve ark., 2001).

Bulaşıcı agalaksi hastalığı hakkında dünyanın birçok ülkesinde araştırmalar yapılmıştır. Güneybatı İspanya'nın Ekstremadura Bölgesinde 100 yetişkin hayvan (95 dişi ve 5 erkek) ve 1 yaşın altında 60 yavrudan oluşan ticari saanen sürüsünde Bulaşıcı agalaksi salgını meydana gelmiştir. Doğrudan ve dolaylı ölüm oranı yetişkinlerde %80, yavruarda ise %82'nin üzerinde (49 hayvan) gerçekleşmiştir. Mikrobiyolojik inceleme için 14 yetişkin hayvandan süt örnekleri, göz ve eklem sıvısı, iki yavrudan eklem sıvısı alınmıştır. Ayrıca, salgında ölen üç dişi ve iki erkek keçiden meme bezi, karaciğer, dalak, böbrek, ince bağırsak, eklem, ovidukt, uterus ve testislerden doku örnekleri alınmıştır. İzolasyon çalışmasında Hayflick's agar, Mc Conkey agar, ve kanlı agar kullanılmıştır. Serolojik tanımlama için *Mycoplasma*'ların referans suşlarına karşı tavşanlardan elde edilen monospesifik hiperimmün antiserumlar, büyüme ve metabolizma inhibisyonu testlerinde kullanılmıştır. Tüm canlı yetişkin keçilerden toplanan meme salgılarından ve eklem sıvılarından ve iki yavrunun eklem sıvısından *M. agalactiae* ve *M. putrefaciens* izole edilmiştir. Göz salgılarından *M. agalactiae* izole edilmiştir. Ayrıca çeşitli nekrops dokularından *M. agalactiae* ve *M. putrefaciens* (tek başına veya bir arada) izole edildiği belirtilmiştir. Uterus, ovidukt ve ayrıca bir erkeğin testislerinden sadece *M. putrefaciens* İzole edildiği bildirilmiştir (Gil ve ark., 2003). İran'ın orta batısındaki koyun sürülerinde *M. agalactiae* enfeksiyonlarının mevcut durumunu araştırmak için yapılan bir çalışmada, 26 sürüdeki sağlıklı koyunlardan toplam 54 göz sıvabı ve 47 süt örneği alınmıştır. PCR yöntemi kullanılarak, incelenen 101 hayvandan alınan 54

göz sıvabının 12'sinde ve 47 süt örneğinin 8'inde *M. agalactiae* pozitif bulunmuştur. Sonuçlar, İran'ın orta batısındaki sürülerde koyunların yaklaşık %20'sinin Bulaşıcı agalaksi enfeksiyonuna sahip olduğunu gösterdiği bildirilmiştir (Pirali Kheirabadi ve Ebrahimi, 2007). Brezilya'nın Kuzeydoğu Bölgesi Paraíba Eyaletinde mastitis ve poliartritis, yavrularda poliartritis ve konjonktivitis ile karakterize, ateş, anoreksi ve ölümlerin de görüldüğü Bulaşıcı agalaksi salgını meydana geldiği bildirilmiştir. Etkilenen sürüden alınan süt, eklem sıvısı, burun ve kulak sıvabı kültürel, biyokimyasal, immünoperoksidaz ve PCR yöntemleri uygulanmış ve etkenin *M. agalactiae* olduğu tespit edilmiştir. Brezilya'da *M. agalactiae* enfeksiyonunun ilk raporu bu çalışma olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda taşıyıcı hayvanların önemli bir rolü olduğu belirtilmiş, tylosin ile beş günlük tedavi sonrası ve ayrıca *Psoroptes cuniculi* ile enfekte olan koyun ve keçilerin kulak yıkantılarından *M. agalactiae* izole edilmiştir (De Azevedo ve ark., 2006). Diğer ülkelerde *P. cuniculi* keçilerde oldukça yaygın olduğu ve *M. agalactiae*'nin bu akardan izole edildiği bildirilmiştir (Cottew ve Yeats, 1982; Da Massa, 1983a). Amores ve arkadaşlarının İspanya'da bulunan keçi suni tohumlama merkezlerinde yaptıkları bir çalışmada, 119 semen örneği, 11 süt örneği ve 318 kulak sıvabını içeren 448 numune, kültür veya PCR yöntemi ile *Mycoplasma* varlığını tespit etmek için kontrol edilmiştir. Kulak sıvablarının 294 tanesi erkek keçilerden, geri kalan 24 tanesi ise dişi keçilerden toplanmıştır. 84 kulak sıvabı (%26.4), 1 semen (%0,8) ve 1 süt örneğini de (%9) içeren toplam 86 örnek (%19,2) *Mycoplasma* varlığı açısından pozitif bulunmuştur. Süt ve semen numunesinde *M. agalactiae* izole edilmiştir. Kulak sıvabı örneklerinde *M. agalactiae*, Mmc, Mcc izole edilmiş ve en fazla saptanan *Mycoplasma*, 79 örnekte (%24.8) pozitif olduğu saptanan *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* olduğu belirtilmiştir (Amores ve ark., 2011). İran'ın batısında PCR yöntemiyle yapılan çalışmada, 189 küçükbaş hayvandan alınan numunelerden %76,2 oranında *Mycoplasma* spp. tespit edilmiştir. Pozitif örneklerin %16'sının *M. agalactiae* olduğu ve Bulaşıcı agalaksiye neden olan *M. agalactiae*'nin hastalığın ana etkeni olmadığı sonucuna varmışlardır (Khezri ve ark., 2014).

Türkiye'de Bulaşıcı agalaksi hastalığıyla ilgili olarak yapılan çalışmalar sınırlıdır. Çetinkaya ve arkadaşları (2009), *Mycoplasma capricolum* subsp. *capripneumoniae* etkeninin neden olduğu Keçilerin Bulaşıcı Plöropnömonisi

hastalığının Türkiye'deki yaygınlığı üzerine araştırmalar yapmıştır. Daha sonra *Mycoplasma* aşı stratejileri geliştirmek amacıyla Bulaşıcı agalaksi hastalık etkenlerinin Doğu Anadolu Bölgesi illerindeki yaygınlığını araştırmışlardır (Çetinkaya ve ark., 2009; Çetinkaya ve ark., 2010). Özdemir ve Türkaslan (2003) yaptıkları çalışmada, Bulaşıcı agalaksi hastalığı ile şüpheli 22 adet koyun ve keçi sürüsünden toplam 144 örnek almış ve 53'ünden *M. agalactiae*, 6'sından Mmc, 5'inden Mcc ve 4'ünden Mmm LC olarak toplam 68 örnekte *Mycoplasma* etkeni izole ve tanımlanmıştır. Bu çalışmalarında hastalığın Marmara Bölgesinde, Ege ve Akdeniz Bölgesine göre daha yoğun olarak görüldüğü belirtilmiştir (Özdemir ve Türkaslan, 2003). Oflu ve arkadaşlarının (1997) Kars Bölgesi'nde yaptıkları çalışmada; 200 başlık koyun sürüsünde bazı hayvanlarda mastitis, keratokonjunktivitis ve artrit ile karakterize hastalık görüldüğü ve alınan numunelerden *M. agalactiae* izole ve tanımlanmıştır bildirilmiştir (Oflu ve ark., 1997). Kars Yöresinde koyunlarda Bulaşıcı agalaksi hastalığının kültürel ve serolojik yöntemlerle araştırılması sonucu, kültürel olarak 60 süt örneğinin 3'ünden, 14 göz sıvabının 2'sinden, 5 eklem sıvısının 1'inden olmak üzere toplam 79 örneğin 6'sından *M. agalactiae* izole edilmiştir. Serolojik olarak yapılan ELISA testi sonucunda ise 135 adet kan serum örneğinin 16'sı pozitif, 15'i şüpheli, 104'ü negatif olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma sonucunda Bulaşıcı agalaksi hastalığının Kars Yöresinde görülen önemli hastalıklardan biri olduğu sonucuna varılmıştır (Öztürkler, 2003). Marmara Bölgesi'nde Bulaşıcı agalaksi hastalığının varlığını araştırmak için koyun ve keçilerden alınan 162 adet süt örneği, 147 adet göz sıvabı, 15 adet eklem sıvısı, 11 adet burun sıvabı, ve 4 adet akciğer örneği bakteriyolojik ve moleküler yöntemlerle incelenmiştir. Bakteriyolojik yöntemlerle yapılan incelemede 29 adet örnekten *Mycoplasma* spp. izole edilmiştir ve bunların 25'i *M. agalactiae*, 2'si *M. ovipneumoniae* ve 2'si *M. arginini* olarak tanımlanmıştır. Bölgedeki Bulaşıcı agalaksi hastalığının başlıca etkenin *M. agalactiae* olduğu belirtilmiştir (Göçmen, 2014). Mersin İlinde bulunan aile tipi 5 keçi işletmesindeki mastitis, artrit, topallama gibi klinik belirti gösteren keçilerden 118 adet süt örneği alınmış ve bu örnekler bakteriyolojik ve moleküler yöntemlerle incelenmiştir. Bakteriyolojik yöntemlerle 10 adet *Mycoplasma* spp. izole edilmiştir. Sonrasında yapılan PCR testi ile 10 adet izolattan 7 adedinin *M. agalactiae* olduğu tespit edilmiştir (Uluganlıgil, 2019).

İdentifikasyon çalışmalarında etkenlerin morfoloji, üreme ve metabolik özelliklerinin diğer *Mycoplasma*'larla benzerlik göstermesi (Poveda, 1998; Poveda ve Nicholas, 1998) nedeniyle biyokimyasal testlere dayanan izolatların karakterizasyonu genellikle önerilmemektedir (Kumar, 2000; Kumar ve ark., 2011). PCR yöntemi birçok laboratuvarında rutin olarak kullanılmaktadır ve oldukça hassastır. Klinik örneklerde yapıldığında hızlı bir erken teşhis imkanı sağlayabilmektedir (Tatay-Dualde ve ark., 2015). Kültürel yöntemlerde, elde edilen *Mycoplasma* kolonilerin saflaştırılmasına ihtiyaç duyulur ve bu durum uzun bir prosedür gerektirir. İmmunofloresan testleri (Poumarat, 1998) ve yakın zamanda kullanılan PCR testleri gibi testler kolonilerin saflaştırılmasına gerek duymadan, karışık kültürlerde patojenik *Mycoplasma*'ları tespit edilebilir ve bu da zaman kazandırır (OIE, 2018).

Yaptığımız çalışmada küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde önemli yere sahip Isparta ve Afyonkarahisar yöresinde Bulaşıcıagalaksi hastalığının varlığının araştırılması amaçlandı. Küçükbaş hayvanlarda mastitis, keratokonjunktivitis, artrit, solunum yolu enfeksiyonu semptomları gösteren ve geçmişte hastalık şüphesi oluşmuş küçükbaş hayvanlardan örnekler alınarak etken izole edilmeye çalışıldı. 28 adet burun sıvabının 3'ünden *Mycoplasma* spp. izole edildi. *Mycoplasma* spp. olarak izole edilen 3 izolata *Mycoplasma agalactiae* PCR uygulandı ve izolatlar *M. agalactiae* yönünden negatif bulundu. Koloni morfolojilerinin incelenmesi ve yapılan biyokimyasal testler, üreme inhibisyon testi ile 1 (%0,49) etkenin *M. arginini* olduğu tespit edildi ve 2 (%0,99) etkenin merkezsiz koloni morfolojisine sahip *M. ovipneumoniae* olduğu belirlendi. Daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak Bulaşıcıagalaksiye neden olan dört etkenden hiç biri izole ve tanımlanamamış olsa da Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda önceki yıllarda *M. agalactiae* etkeninin izole edildiği Doç. Dr. Beytullah KENAR 'ın beyanlarından anlaşılmıştır.

Yapılan literatür taramasında ülkemizin farklı bölgelerinde ve farklı zamanlarda Bulaşıcıagalaksi hastalığına yönelik kültürel, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak çalışmalar yapıldığı görülmüştür (Uluganlıgil, 2019; Göçmen, 2014; Öztürkler, 2003; Özdemir ve Türkaslan, 2003). Hastalık etkenlerinin *M.*

agalactiae, *Mmc*, *Mcc* ve *M. putrefaciens* olmasına rağmen yapılan çalışmaların daha çok *M. agalactiae* etkeninin tespitine yönelik olduğu düşünülmüştür.

Bu çalışmada Bulaşıcı agalaksi etkenlerinin tespit edilememesinin nedeni olarak bazı faktörlerin etkili olabileceği düşünüldü. Bölgeye dışarıdan hayvan girişinin az olduğu ve bu sayede hastalık görülme olasılığının azaldığı düşünüldü. Bölgedeki sürü sahipleriyle, resmi ve klinisyen veteriner hekimlerle yapılan görüşmelerde, Bulaşıcı agalaksi belirtilerinin daha önceki yıllarda sık görüldüğü ve önemli ekonomik kayıplara neden olduğu belirtildi. Fakat hastalığa karşı yapılan aşılamalardan sonra hastalık belirtilerinin azaldığı, görülen belirtilerin de hafif olduğu vurgulandı. Hastalığın mastitis, artrit, keratokonjunktivitis gibi karakteristik klinik semptomlar göstermesi, veteriner hekimler ve yetiştiriciler tarafından erken tanınmasına ve hızla antibiyotik tedavi uygulamasına sebep olduğunu akla getirmektedir. Bunun yanında hastalığın ülkemizde ihbarı mecburi hastalıklar listesinde bulunmaması da hastalığın gerçek prevalansının tespitini güçleştirmektedir. Görülen hastalık vakalarıyla ilgili genellikle herhangi bir laboratuvar teşhisi gerçekleştirilmediğinden, klinik belirtilere göre aşılama ve tedavi uygulandığından, hastalık belirtilerinin baskılanabileceği, hastalığın benzer semptomlar gösteren diğer bakteriyel enfeksiyonlarla da karışabileceği, ayrıca hastalığın laboratuvar tespitini de zorlaştırabileceği düşünüldü. Hastalığın daha çok laktasyon döneminde kendini göstermesi de teşhisi etkileyen diğer bir sebeptir. Etken teşhisinde kullanılan bakteriyolojik yöntemlerin uzun zaman alması ve maliyetli olması, *Mycoplasma*'ların nazlı ve yavaş üreyen bakteriler olması, özel ortama ihtiyaç duyması, sürülerdeki antibiyotik kullanımının etkenin izole edilmesinde sorunlara yol açtığını düşündürmektedir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada Isparta ve Afyonkarahisar yöresinde Bulaşıcı agalaksi hastalığının varlığı araştırıldı. Bölgedeki 220 adet küçükbaş hayvan işletmesinde bulunan 45.500 adet küçükbaş hayvan Bulaşıcı agalaksi hastalığı yönünden tarandı. Hastalık şüphesi taşıyan 21 adet küçükbaş hayvan işletmesinden, 139 adet keçi, 56 adet koyun, 3 adet oğlak, 2 adet teke, 2 adet kuzu olmak üzere toplam 202 adet küçükbaş hayvandan, 91 adet süt numunesi, 28 adet burun sıvabı, 101 adet göz sıvabı, 8 adet eklem sıvısı, 61 adet kulak sıvabı olmak üzere toplam 289 adet numune alındı. Çalışmada 28 adet burun sıvabının 3'ünden *Mycoplasma* spp. izole edildi. *Mycoplasma* spp. izole edilen 3 izolata *Mycoplasma agalactiae* PCR uygulandı ve izolatlar *M. agalactiae* yönünden negatif bulundu. Koloni morfolojilerinin incelenmesi, yapılan biyokimyasal testler ve üreme inhibisyon testi ile 1 (%0,49) etkenin *M. arginini* olduğu tespit edildi ve 2 (%0,99) etkenin merkezlessiz koloni morfolojisine sahip *M. ovipneumoniae* olduğu belirlendi. Bulaşıcı agalaksi'ye neden olan dört etkenden hiçbiri izole ve identifiye edilemedi.

Yapılan literatür taramalarında ülkemizde yapılan çalışmalarda hastalığın hala görülmeye devam ettiği anlaşılmaktadır. Bu da hayvan hareketleriyle birlikte hastalık görüme riskinin devam ettiği ve hastalığa karşı önlemler alınması gerektiğini düşündürmektedir. Hayvan hareketlerinin kontrollü olması, sağım hijyenine uygun davranılması, sağım alet ve ekipmanları ile işletme hijyenine önem verilmesi, sürünün belirli aralıklarla serolojik yöntemlerle kontrolü, hasta veya hastalıktan şüpheli hayvanların sürüden çıkarılması, planlı aşılama programlarının uygulanması, paraziter mücadelenin yapılması Bulaşıcı agalaksi hastalığına karşı alınabilecek tedbirler arasında sayılabilir. Hastalığa neden olan *M. agalactiae* haricinde diğer üç etkenin de ülkemizdeki görüme sıklığının araştırılması ve aşı geliştirme çalışmalarında bu etkenlerin de göz önünde bulundurulması gerektiği düşünülmüştür. Hastalığın gerçek prevalansının tespiti için ihbarı mecburi hastalıklar listesine alınmasının faydalı olabileceği düşünülmüştür. Klinik olarak Bulaşıcı agalaksi şüphesi olan hayvanlardan *M. ovipneumoniae* ve *M. arginini*'nin izole edilmesi, bu etkenlerin hastalık üzerine olan etkisinin araştırılması gerektiğini de düşündürmüştür.

ÖZET

Isparta ve Afyonkarahisar Yöresinde Koyun ve Keçilerde Bulaşıcı Agalaksi Hastalığı Varlığının Araştırılması

Küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin önemli sorunlarından biri olan Bulaşıcı agalaksi hastalığı yüksek morbidite oranına sahiptir ve önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Isparta ve Afyonkarahisar Yöresinde Bulaşıcı agalaksi hastalığı ile ilgili yeterli çalışma yoktur. Bu çalışmada Isparta ve Afyonkarahisar Yöresinde Bulaşıcı agalaksi hastalığının varlığıyla ilgili araştırma yapılması amaçlandı. 220 adet küçükbaş hayvan işletmesinde bulunan 45.500 adet küçükbaş hayvan Bulaşıcı agalaksi hastalığı yönünden tarandı. 21 adet küçükbaş hayvan işletmesinden 139 adet keçi, 56 adet koyun, 3 adet oğlak, 2 adet teke, 2 adet kuzu olmak üzere toplam 202 adet hayvandan numune alındı. 91 adet süt numunesi, 28 adet burun sıvabı, 101 adet göz sıvabı, 8 adet eklem sıvısı, 61 adet kulak sıvabı olmak üzere toplam 289 adet numune alındı. 28 adet burun sıvabının 3'ünden *Mycoplasma* spp. izole edildi. *Mycoplasma* spp. izole edilen 3 izolata *Mycoplasma agalactiae* PCR uygulandı ve izolatlar *M. agalactiae* yönünden negatif bulundu. Koloni morfolojileri incelendi ve yapılan biyokimyasal testler, üreme inhibisyon testi ile 1 (%0,49) etkenin *M. arginini* olduğu tespit edildi ve 2 (%0,99) etkenin merkezsiz koloni morfolojisine sahip *M. ovipneumoniae* olduğu belirlendi. Bulaşıcı agalaksi'ye neden olan dört etkenden hiçbiri izole ve identifiye edilemedi.

Anahtar Kelimeler: Koyun, keçi, *Mycoplasma agalactiae*, süt, eklem sıvısı, konjunktival sıvı

SUMMARY

Investigation of Contagious Agalactia Disease in Sheep and Goats in Isparta and Afyonkarahisar Region

Contagious agalactia disease, which is one of the major problems of ovine breeding, has a high morbidity rate and leading to significant economic losses. The aim of this study was to investigate the presence of Contagious agalactia in Isparta and Afyonkarahisar region. 45.500 small ruminant in 220 herds were screened for Contagious agalactia. A total of 202 animals were sampled from 139 goats, 56 sheep, 3 goats, 2 goats, 2 lambs from 21 herds. 91 milk samples, 28 nasal swabs, 101 eye swabs, 8 articular fluids, 61 ear swabs, total 289 samples were taken. *Mycoplasma* spp. was isolated from 3 nasal swabs. *Mycoplasma agalactiae* PCR was applied to 3 isolates isolated to be *Mycoplasma* spp. and the isolates found to be negative for *M. agalactiae*. Colony morphologies were examined and biochemical tests and growth inhibition test revealed that 1 (0.49%) was *M. arginine* and 2 (0.99%) were found to be *M. ovipneumoniae* with centerless colony morphology. As a result, none of the four factors causing Contagious agalactia were isolated and identified.

Key words: Sheep, goat, *Mycoplasma agalactiae*, milk, joint fluid, conjunctival swab

KAYNAKÇA

- AKÇAPINAR, H. (1994). Koyun Yetiştiriciliği. Ankara Medisan Yayınevi sy.1.
- AL-MOMANI, W., NICHOLAS, R.A.J. ve ABO-SHEHADA, M. (2007). Risk factors associated with *Mycoplasma agalactiae* infection of small ruminants in Northern Jordan. *Preventative Veterinary Medicine* 83, 1–10.
- AMORES, J., GOMEZ-MARTIN, A., CORRALES, J.C., SANCHEZ, A., CONTRERAS, A. ve DE LA FE, C. (2011). Presence of contagious agalactia causing mycoplasmas in Spanish goat artificial insemination centres. *Theriogenology* 75, 1265–1270
- AMORES, J., SANCHEZ, A., MARTIN, A. G., CORRALES, J. C., CONTRERAS, A. ve DE LA FE, C. (2010). Viability of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in goat milk samples stored under different conditions. *Veterinary Microbiology*, vol. 145, no. 3-4, pp. 347–350.
- ANONİM (2015). Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. Taxonomic Outline Last updated: October 3rd 2017 Erişim:[<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781118960608.obm00112>]. Erişim Tarihi: 11.05.2018
- ANONİM (2019a): Erişim: [<https://www.camli.com.tr/bilgi-merkezi/merak-ettikleriniz/post/ulkemizde-kucukbas-hayvan-yetistiriciliginin-onemi-nedir>] Erişim Tarihi: 28.09.2019
- ANONİM (2019b): Erişim:[<https://www.tarimorman.gov.tr/Konular/Hayvancilik/Kucukbas-Hayvancilik/Keci-Yetistiriciligi>] Erişim Tarihi:28.09.2019
- ARDA, M., MİNBAŞ, A., AYDIN, N., AKAY, Ö., İZGÜR, M., LELOĞLU, N., KAHRAMAN, M., İLGAZ, A., ve DİKER, K.S. (1997). Özel Mikrobiyoloji. Ankara Medisan Yayınevi sy.275-284.
- AYDIN, N., İZGÜR, M., DİKER, K.S., YARDIMCI, H., ESENDAL, Ö., PARACIKOĞLU, J., ve AKAN, M. (2006). Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar), sy. 293-302.
- BASHIRUDDIN, J. (1998). PCR and RFLP methods for the specific detection of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC. In: *Mycoplasma Protocols*, Miles R.J. & Nicholas R.A.J., eds. Humana Press, Totowa, USA, pp 167–178.
- BERGONIER, D. (1996). Etude de la variabilite intra-specifique de *Mycoplasma agalactiae*: bases pour l'amélioration du diagnostic de l'agalactie contagieuse. PhD. Thesis. Université Claude Bernard, Lyon. 205 p.
- BERGONIER, D., DE SIMONE, F., RUSSO, P., SOLSONA, M., LAMBERT, M. ve POUMARAT, F. (1996a). Variable expression and geographic distribution of *Mycoplasma agalactiae* surface epitopes demonstrated with monoclonal antibodies. *FEMS Microbiology Letters*, vol.143, no. 2-3, pp. 159–165.

- BERGONIER, D., SOLSONA, M., FREY, J., MISEREZ, R., NICOLET, J. ve POUMARAT, F. (1996b). PCR on 16S rRNA gene, restriction endonuclease analysis and SDS-PAGE patterns of *Mycoplasma agalactiae* isolates, in *Cost 826: Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, J. Frey and K. Sarris, Eds., pp. 91–93, EUR 16934, COST, European Commission, European Communities Official Publications Office, Luxembourg.
- BERGONIER, D., BERTHOLET, X. ve POUMARAT, F. (1997). Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Revue Scientifique et Technique Office International Epizooties* 16, 848–873.
- BEŞE, M. ve ARDA, M. (1968). Koyunlarda *Mycoplasma agalactiae*'nin İlk İzolasyonu Üzerinde Araştırmalar.
- BHAUMIK, A., VERMA, B.B., THAKUR, D.K., PANDEY, S.N. ve BENERJEE, N.C. (1990). Effect of oral administration of tylosin tartrate in the treatment of experimental and natural cases of caprine mycoplasmosis. *Indian Vet. J.* 67: 948 – 951.
- BRIDRE, J., ve DONATIEN, A. (1923). Le microbe de l'agalaxie contagieuse et sa culture in vitro. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 177: 841 – 843.
- CAMPBELL, A.D. ve TURNER, A.W. (1936). Studies on contagious pleuropneumonia of cattle. II. A complement fixation reaction for the diagnosis of contagious bovine pleuropneumonia. *Bulletin of Conference of Science of Indian Research*, vol. 97, pp.11–52.
- CASTRO-ALONSO, A., DE LA, FE C., ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A., RODRÍGUEZ, F., ANDRADA, M., POVEDA, J.B. ve HERRAEZ, P. (2010). Chronological and immunohistochemical characterization of the mammary immunoinflammatory response in experimental caprine contagious agalactia. *Vet. Immunol. and Immunopathol.* 136, 43-45.
- HAZEL, M., TARDY, F., LE GRAND, D., CALAVAS, D., ve POUMARAT, F. (2010). Mycoplasmoses of ruminants in France: Recent data from the national surveillance network *BMC Veterinary Research*, 6, p. 32.
- CHO, H. J. ve LANGFORD, E. V. (1974). Rapid detection of bovine mycoplasma antigens by counterimmuno electrophoresis. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 28, no. 5, pp. 897–899.
- CFSPH (The Center For Food Security & Public Health) (2018). Contagious Agalactia, Caprine Mycoplasmosis. Erişim: [http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/contagious_agalactia.pdf] Erişim Tarihi: 05.09.2019
- CILLARA, G., MANCA, M.G., LONGHEU, C. ve TOLA, S. (2015). Discrimination between *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* and *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* using PCR-FLP and PCR. *Vet. J.*, 205, 421–423.
- COTTEW, G.S. ve YEATS, F.R. (1982). Mycoplasmas and mites in the ears of clinically normal goats. *Aust. Vet. J.*, 59, 77-81

- ÇETİNKAYA, B., KALIN, R., KARAHAN, M., ATIL, E., MANSO-SILVAN, L. ve THIAUCOURT, F. (2009). Detection of contagious caprine pleuropneumonia in East Turkey. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 28(3), 1037-1044. doi:10-20506/rst.28.3.1944.
- ÇETİNKAYA, B., KARAHAN, M., KALIN, R. ve ATIL, E. (2010). Türkiyenin doğusundaki ruminant Mikoplazmalarının biyoçeşitliliği: Aşı ve kontrol stratejileri için uygulamalar. IX. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi Bildiri, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, sy. 9-12.
- DA MASSA, A. J. (1983a). Prevalence of *Mycoplasmas* and mites in the external auditory meatus of goats. *Calif. Vet.*, 37(10), 13-17.
- DA MASSA, A. J. (1983b). Recovery of *Mycoplasma agalactiae* from mastitic goat milk. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, vol. 183, no. 5, pp. 548–549.
- DA MASSA, A. J., WAKENELL, P. S. ve BROOKS, D. L. (1992). Mycoplasmas of goats and sheep. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 4, no. 1, pp. 101–113.
- DAMDİNSUREN, CH. (1989). Mycoplasmosis in farm animals in Mongolia: immunization of sheep and goats against contagious agalactia. *Arch. Exp. VetMed.* 43: 769 – 772
- DE AZEVEDO, E.O., DE ALCÂNTARA, M. D. B., DO NASCIMENTO, E. R., TABOSA, I. M., BARRETO, M. L., DE ALMEIDA, J. F., ARAÚJO, M. D., RODRIGUES, A.R.O., RIET-CORREA, F. ve DE CASTRO, R. S. (2006). Contagious agalactia by *Mycoplasma agalactiae* in small ruminants in Brazil: first report. *Brazilian Journal of Microbiology* vol.37 no.4 São Paulo.
- DEDIEU, L., MADY, V. ve LEFEVRE, P.C. (1995). Development of two PCRs for the identification of mycoplasmas causing contagious agalactia. *FEMS Microbiology Letters* 129, 243–250.
- DE LA FE, C., ASSUNÇÃO, P., ANTUNES, T., ROSALES, R.S. ve POVEDA, J.B. (2005). Microbiological survey for *Mycoplasma* spp. in a contagious agalactia endemic area. *The Veterinary Journal.* 170, 257- 259.
- EDWARD, D. G. (1953). Organisms of the pleuropneumonia group causing disease of goats. *Veterinary Record*, vol. 65, pp. 873–875.
- ERDAG, O. ve COTTEW, G. S. (1971). Gel electrophoresis separation of the proteins of mycoplasma organisms isolated from sheep and goats. *Pendik Veteriner Kontrol ve Arasturma Enstitusu Dergisi*, vol. 4, no. 1, pp. 78–84.
- GIL, M.C., HERMOSA, DE MENDOZA, M., REY, J., ALONSO, J.M. POVEDA, J.B. ve HERMOSA DE MENDOZA, J. (1999). Aetiology of caprine contagious agalactia syndrome in Extramadura, Spain. *Vet. Rec.*, 144, 24–25.
- GIL, M. C., PENA, F. J., HERMOSO DE MENDOZA, J. ve GOMEZ, L. (2003). Genital Lesions in an Outbreak of Caprine Contagious Agalactia Caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma putrefaciens*. *J. Vet. Med.* B 50, 484–487

- GOMEZ-MARTIN, A., CORRALES, J. C., AMORES, J., SANCHEZ, A., CONTRERES, A., PATERNA, A. ve DE LA FE, C. (2012). Controlling contagious agalactia in artificial insemination centers for goats and detection of *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* in semen. *Theriogenology*, vol. 77, no. 6, pp. 1252–1256.
- GOMEZ-MARTIN, A., AMORES, J., PATERNA, A. ve DE LA FE, C. (2013). Contagious agalactia due to *Mycoplasma* spp. in small dairy ruminants: Epidemiology and prospects for diagnosis and control. *The Veterinary Journal* Volume 198, Issue 1, October 2013, Pages 48-56
- GÖÇMEN, H. (2014). Marmara Bölgesinde Koyun ve Keçilerde *Mycoplasma agalactiae*'nin Bakteriyolojik ve Moleküler Yöntemler ile Araştırılması. Doktora Tezi, Uludağ Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- GRECO, G., CORRENTE, M., MARTELLA, V., PRATELLI, A. ve BOUNOVOGLIA, D. (2001). A multiplex PCR for the diagnosis of contagious agalactia of sheep and goats. *Mol. Cell. Probes*, 15, 21–25.
- GRECO, G., CORRENTE, M., BUONOVOGLIA, D., ALIBERTI, A. ve FASANELLA, A. (2002). Inactivated vaccine induces protection against *Mycoplasma agalactiae* infection in sheep. *Microbiologica*, 25, 17–20.
- GUMMELT, I., HOTZEL, H., RUNGE, M. ve KIRCHOFF, H. (1996). Taxonomic relationship between *M. bovis* and *M. agalactiae*, in *Cost826: Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, J. Frey and K. Sarris, Eds., pp. 27–29, EUR16934, COST, European Commission, European Communities Official Publications Office, Luxembourg.
- HASSO, S. A., AL-AUBAIDI, J. M. ve AL-DARRAJI, A. M. (1993). Contagious agalactia in goats: its severity as related to the route of infection and pregnancy, *Small Ruminant Research*, vol. 10, no. 3, pp. 263–275.
- HELLER, M., SCHWARZ, R., NOE, G., JORES, J., FISCHER, A., SCHUBERT, E. ve SACHSE, K. (2015). First human case of severe septicaemia associated with *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* infection. *JMM Case Reports*.
- KHAN, L., LORIA, G., ABU AMERO, K., NICHOLAS, R.A.J., HALABLAB, M., ve MILES, R.J. (2001). Distinctive biochemical characteristics of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis*. Editors: POVEDA J.B., FERNANDEZ A., FREY J., JOHANSSON K.E., *Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, Vol. 5, European Commission, Brussels, Belgium, page 60-63
- KHAN, L.A., LORIA, G.R., RAMIREZ, A.S., NICHOLAS, R.A.J., MILES, R.J. ve FIELDER, M.D. (2004). Biochemical characterisation of some non fermenting, non arginine hydrolysing mycoplasmas of ruminants. *Veterinary Microbiology* 109, 129–134.
- KHANDELWAL, S. (2018). *Mycoplasma*: History, Habitat, Characters and Cell Structure Erişim:[<http://www.biologydiscussion.com>]. Erişim Tarihi:29.01.2018

- KHEZRI, M., POURBAKHS, S. A., ASHTARI, A. ve ROKHZAD, B. (2014). A Survey Of *Mycoplasma Agalactiae* In Small Ruminants With Contagious Agalactiae Syndrome In Iran, *Bangl. J. Vet. Med.*, 12 (1): 67-72
- KINDE, H., DA MASSA, A.J., WAKENELL, P.S. ve PETTY, R. (1994). Mycoplasma infection in a commercial goat dairy caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (caprine biotype), *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 6, no. 4, pp. 423–427.
- KIZIL, O. ve ÖZDEMİR, H. (2006). Clinical, haematological and biochemical studies in goats naturally infected with *Mycoplasma agalactiae*, *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, vol. 50, no. 3, pp. 325–328.
- KUMAR, A. ve CHANDIRAMANI, N.K. (1987). Isolation and characterization of *M. agalactiae* from premature born kids of goats, *Indian Journal of Comparative Microbiology, immunology and Infectious Diseases*, vol. 8, pp.95-97
- KUMAR, A. (2000). *Characterization of protein antigens of Mycoplasma agalactiae [M.S. thesis]*, Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, India.
- KUMAR, A. ve SINGH, V.P. (2011). Characterization of *Mycoplasma agalactiae* sonicated supernatant protein antigens (SSA) by Sephadex G-200 column chromatography and SDS-PAGE, *Indian Veterinary Journal*, vol. 88, no. 5, pp. 9–10.
- KUMAR, A., VERMA, A.K. ve RAHAL, A. (2011). *Mycoplasma bovis*, a multi disease producing pathogen: an overview, *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, vol. 6, no. 6, pp. 537–546.
- KUMAR, A., VERMA, A.K., GANGWAR, N. ve RAHAL, A. (2012). Isolation, characterization and antibiogram of *Mycoplasma bovis* in sheep pneumonia, *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, vol. 7, no. 2, pp. 149–157.
- KUMAR, A., SRIVASTAVA, N.C. ve SINGH, V.P. (2014). Antigenic characterization of *Mycoplasma agalactiae* by SDS-PAGE and Immunoblotting, *Research Journal Microbiology*, vol. 9, no. 1, pp. 59–65.
- KUMAR, A., RAHAL, A., CHAKRABORTY, S., KUMAR VERMA A. ve DHAMA K. (2014). Hindawi Publishing Corporation Veterinary Medicine International Volume 2014, Article ID 286752, 13 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/286752>
- KUSILUKA, L. J. M., OJENIYI, B., FRIIS, N. F., KAZWALA, R. R., ve KOKOTOVIC, B. (2000). *Mycoplasmas* isolated from the respiratory tract of cattle and goats in Tanzania. *Acta Vet. Scand.* 41: 299 – 309
- KWANTES, L.J. ve HARBY, H.A.M. (1995). Caprine mycoplasmal arthritis in the Sultanate of Oman, *Small Ruminant Research*, vol. 16, no. 3, pp. 287–289.

- JONES, G.E. (1989). Contagious caprine pleuropneumonia, Technical Series no. 9, Office of International des Epizootics, Paris, France.
- LAMBERT, M., CALAMEL, M., DUFOUR, P., CABASSE, E., VITU, C. ve PEPIN, M. (1998). Detection of false-positive sera in contagious agalactia with a multiantigen ELISA and their elimination with a protein G conjugate, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 10, no. 4, pp. 326–330.
- LEVISOHN, S., DAVIDSON, I., CARO VERGARA, M. R. C. ve RAPOPORT, E. (1991). Use of an ELISA for differential diagnosis of *Mycoplasma agalactiae* and *M. mycoides* subspecies *mycoides* (LC) in naturally infected goat herds, *Research in Veterinary Science*, vol. 51, no. 1, pp. 66–71.
- LORIA, G.R., SAMMARTINO, C., NICHOLAS, R.A.J. ve AYLING, R.D. (2003). In vitro susceptibilities of field isolates of *Mycoplasma agalactiae* to oxytetracycline, tylosin, enrofloxacin, spiramycin and lincomycin-spectinomycin. *Research in Veterinary Science* 75, 3–7.
- MADANAT, A., ZENDULKOVA, D., ve POSPISIL, Z. (2001). Contagious Agalactia of Sheep and Goats. A Review. *Acta Vet. Brno*, 70: 403-412.
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J. ve BROCK, M. (2010). Mikroorganizmaların Biyolojisi Çeviri Editörü: Cumhuriyet Çökmüş, Palme Yayıncılık sy. 383-386 onbirinci baskı.
- MARENDA, M. S., SAGNE, E., POUMARAT, F. VE CİTTİ, C. (2005). Suppression subtractive hybridization as a basis to assess *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma bovis* genomic diversity and species-specific sequences. *Microbiology* 151, 475-489
- MAROGNA, G., BARBATO, A., FIORI, A. ve SCHIANCHI, G. (2015). Produzione, uso ed efficacia sul campo di un vaccino stabulogeno contro *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* nelle capre. *Large Anim. Rev. Suppl* 1., 5, Anno 19, 104–106.
- MATTSON, J. G., GERSDORF, H., GOBEL, U. B., ve JOHANSSON, K. E. (1991). Detection of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* by oligonucleotide probes complementary to 16S rRNA. *Mol. Cell. Probes*. 5: 27 -35.
- MCAULIFFE L., ELLIS R., LAWES J., AYLING R.D. ve NICHOLAS R.A.J. (2005). 16S rDNA and DGGE: a single generic test for detecting and differentiating *Mycoplasma* species. *J. Med. Microbiol.*, 54, 1–9.
- MEGA, A., TSAKNAKIS, I. ve SARRIS K. (1983). Diagnosis of contagious agalactia using ELISA: comparison with the complement fixation test, *Bulletin of Hellenic Veterinary Medicine Society*, vol. 44, pp. 42–48
- MERCIER, P., LENFANT, D., POUMARAT, F. ve PERRIN, G. (2001). Prevalence of mycoplasma infection within French milking caprine herds. In: Poveda, J.B., Fernandez, A., Frey, J. and Johansson, K.-E. (eds) *Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, Vol. 5. European Commission, Brussels, pp. 130–133.

- MILES, R. ve NICHOLAS, R. (1998) *Methods in Molecular Biology Mycoplasma Protocols* Vol. 104 Humana press Inc., Totowa, New Jerse, pp. 69-78.
- MONNERAT, M.P., THIAUCOURT, F., POVEDA, J.B., DE LA FE, C., NICOLET, J. ve FREY, J. (1999). Genetic and serological analysis of lipoprotein lppA in *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*,6, 224–230.
- NICHOLAS, R.A.J. ve BAKER, S.E. (1998). Recovery of mycoplasmas from animals. In: Miles, R.J. and Nicholas, R.A.J. (eds) *Mycoplasma Protocols*. Humana Press, Totowa, New Jersey, pp. 37–44.
- NICHOLAS, R.A.J. (2002). Improvements in the diagnosis and control of diseases of small ruminants caused by mycoplasmas. *Small Ruminant Research* 45, 145–149.
- NICHOLAS, R., AYLING, R. ve McAULIFFE, L. (2008). *Mycoplasma Diseases of Ruminants: GBR: Cabı Publishing. UK.*
- NİCOLET, J. (1994). Mycoplasma infections in cattle, sheep and goats: methods for diagnosis and prophylaxis, in *Comprehensive Reports on Technical Items Presented to the International Committeeor to Regional Commissions*, pp. 43–54, OIE, Paris, France.
- OIE (Office International Des Epizooties) (2008). *Terrestrial Manual Chapter 2.7.5. – Contagious agalactia 992-999.*
- OIE (Office International Des Epizooties) (2013). *World Organisation for Animal Health 2013 conagious agalactia Terrastrial Manual, Chapter 2.7.4.*
- OIE (Office International Des Epizooties) (2018). *World Organisation for Animal Health 2018 conagious agalactia Terrastrial Manual, Chapter 3.7.3.*<http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/the-world-animal-health-information-system/the-oie-data-system/>
- OIE (Office International Des Epizooties) (2019). *World Organisation for Animal Health OIE- Listed diseases, infections and infestationsin force in 2019*<https://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2019> Erişim Tarihi: 26.09.2019
- OTLU, S., AYDIN, F., GENÇ, O. ve TAŞ, C. (1997). Clinical and bacteriological studies on contagious agalactiae in sheep. *Pendik Vet. Mikrobiol. Dergisi* 28 (1): 33-38
- ÖZTÜRKLER, O. (2003). *Kars Yöresi Koyunlarında Kontagiyöz Agalaksiya Hastalığının Kültürel ve Serolojik Yöntemlerle araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.*
- PEYRAUD, A., WOUBIT, S., POVEDA, J.B., DE LA FE, C., MERCIER, P. ve THIAUCOURT, F. (2003). A specific PCR for the detection of *Mycoplasma putrefaciens*, one of the agents of the contagious agalactia syndrome of goats. *Mol. Cell. Probes*, 17, 289–294.

- POOLADGAR, A.R. (2002). Assessment of agalactia in Khuzestan - The third meeting of veterinary clinical sciences- Iran - Mashhad 7-9 November 2002.
- POOLADGAR, A.R., LOONI, R., GHAEMMAGHAMI, S.SH., POURBAKHS, S.A., ASHTARI, A., AHANGARAN, S. ve ALISHIRUDI, A. (2013). Isolation and identification of *Mycoplasma agalactiae* by culture and polymerase chain reaction (PCR) from sheep of Khuzestan province, Iran.
- POUMARAT, F. (1998). Identification of mycoplasmas by dot immunobinding on membrane filtration (MF Dot), in *Mycoplasma Protocols*, R. J. Miles and R. A. J. Nicholas, Eds., pp. 113–118, Humana Press, Totowa, NJ, USA.
- POUMARAT, F., LE GRAND, D., GAURIVAUD, P., GAY, E., CHAZEL, M., GAME, Y. ve BERGONIER, D. (2012). Comparative assessment of two commonly used commercial ELISA tests for the serological diagnosis of contagious agalactia of small ruminants caused by *Mycoplasma agalactiae*, *BMC Veterinary Research*, vol. 8, article 109.
- POVEDA, J.B. (1998). Biochemical characteristics in mycoplasma identification, in *Mycoplasma Protocols*, R. J. Miles and R. A. J. Nicholas, Eds., pp. 69–78, Humana Press, Totowa, NJ, USA.
- POVEDA, J.B. ve NICHOLAS, R.A.J. (1998). Serological identification of mycoplasmas by growth and metabolic inhibition tests, in *Mycoplasma Protocols*, R.J. Miles and R.A.J. Nicholas, Eds., pp. 105–111, Humana Press, Totowa, NJ, USA.
- PIRALI KHEIRABADI, K.H. ve EBRAHIMI, A. (2007). Investigation of *Mycoplasma agalactiae* in Milk and Conjunctival Swab Samples from Sheep Flocks in West Central, Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10 (8): 1346-1348
- QUINN, P.J., MARKEY, B.K., LEONARD, F.C., FITZPATRICK, E.S. ve FANNING, S. (2016). Concise Review of Veterinary Microbiology Second Edition sy. 88-91.
- RAZİN, S., YOGEV, D. ve NAOT, Y. (1998). Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 62, no. 4, pp. 1094–1156.
- REAL, F., DENİZ, S., ACOSTA, B., FERRER, O. ve POVEDA, J. B. (1994). Caprine contagious agalactia caused by *Mycoplasma agalactiae* in the Canary Islands. *Veterinary Record*, vol. 135, no. 1, pp. 15–16.
- REKHA, V., RANA, R., THOMAS, P., VISWAS, K.N., SINGH, V.P., AGARWAL, R.K., ARUN, T.R., KARTHIK, K. ve SOPHIA, I. (2015). Development of loop-mediated isothermal amplification test for the diagnosis of contagious agalactia in goats. *Trop. Anim. Health Prod.*, 47, 581–587.
- SANNA, G., LECCA, V., FODDAI, A. ve TOLA, S. (2014). Development of a specific immunomagnetic capture-PCR for rapid detection of viable *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples. *J. Appl. Microbiol.*, 117, 1585–1591.

- SARRIS, K. (1996). Contagious agalactia, in *Mycoplasmas of Ruminants: Pathogenicity, Diagnostics, Epidemiology and Molecular Genetics*, J. Frey and K. Sarris, Eds., pp. 12–15, EUR 16934, COST, European Commission, European Communities Official Publications Office, Luxembourg.
- SRIVASTAVA, N. C. (1982). *Studies on the mycoplasma and acholeplasma of respiratory tract of buffaloes [Ph. D. thesis]*, Rohilkhand University, Bareilly, India.
- SUBRAHAMANIAM, S., BERGONIER, D., POUMARAT, F., CAPUAL, S., SCHLATTER, Y., NICOLET, J. ve FREY, J. (1998). Species identification of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* based on the *uvrC* gene by PCR. *Molecular and Cellular Probes* 12, 161–169.
- SUNDER, J., SRIVASTAVA, N.C. ve SINGH, V.P. (2002). Preliminary trials on development of vaccine against *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* type LC infection in goats. *J. Appl. Anim. Res.*, 21, 75–80.
- ŞENGONCA, M. (2005). Hayvan Yetiştirme İlkeleri. Bornova/İzmir Ege Üniversitesi Basımevi sy.52-54.
- TARDY, F., BARANOWSKI, E., NOUVEL, L-X., MICK, V., MANSO-SILVAN, L., THIAUCOURT, F., THÉBAULT, P., BRETON, M., SIRAND-PUGNET, P., BLANCHARD, A., GARNIER, A., GIBERT, P., GAME, Y., POUMARAT, F. ve CITTI, C. (2012). Emergence of atypical *Mycoplasma agalactiae* strains harboring a new prophage and associated with an alpinewild ungulate mortality episode. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 78, no. 13, pp.4659–4668.
- TATAY-DUALDE, J., SANCHEZ, A., PRATS-VAN DER HAM, M., GOMEZ-MARTIN, A., CORRALES, J.C., DE LA FE, C., CONTRERAS, A. ve AMORES, J. (2015). Sensitivity of two methods to detect *Mycoplasma agalactiae* in goat milk. *Ir. Vet. J.*, 68, 21.
- T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI (2019). Teşhiste Metot Birliği, Bakteriyoloji, Cilt1,sy. 155-159, Erişim Adresi: <https://www.tarimorman.gov.tr/Konu/1008/Teshiste-Metod-Birligi>, Erişim Tarihi: 31.10.2019
- TOLA, S., RIZZU, P., ve LEORI, G. (1994). A species-specific DNA probe for the detection of *Mycoplasma agalactiae*. *Vet. Microbiol.* 41: 355 – 361
- TOLA, S., ANGIOI, A., ROCCHIGIANI, A.M., IDINI, G., NANUNTA, D., GALLERI, G. ve LEORI, G. (1997). Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology* 54, 17–22
- TOLA, S., MANUNTA, D., COCCO, M., TURRINI, F., ROCCHIGIANI, A.M., IDINI, G., ANGIOI, A. ve LEORI G. (1997). Characterization of membrane surface proteins of *Mycoplasma agalactiae* during natural infection, *FEMS Microbiology Letters*, vol. 154, no. 2, pp.355–362.
- TURKASLAN, J. (1990). Control of important mycoplasma diseases in Turkey with specialempphasis on CCPP and contagious agalactia. *IOM Letters* 1, 184–185.

- ULUGANLIGİL, R. (2019). Mastitisli Keçilerde *Mycoplasma Agalactiae*'nın Bakteriyolojik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- WATSON, W. A., COTTEW, G. S., ERDAĞ, O. ve ARISOY, F. (1968). The pathogenicity of *Mycoplasma* organisms isolated from seep and goats in Turkey. *Journal of Comparative Pathology*, 78: 283-291.
- ZAVAGLI, V. (1951). L'agalaxie contagieuse de la brebis et de la ch'evre, *Bulletin of Office of International Epizootics*, vol. 36,pp. 336–362.
- ZENDULKOVA, D., MADANAT, A., LANY, P., ROSENBERGOVA, K. ve POSPISIL, Z. (2007). Detection of *Mycoplasma agalactiae* by polymerase chain reaction in Jordanian Sheep and Goat Herds. *Acta Veterinary Brno*, vol. 76, no. 1, pp. 71–77.

ÖZGEÇMİŞ

1978 Sandıklı doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Isparta'nın Keçiborlu ilçesinde tamamladım. 2000 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden mezun oldum. 2000-2003 tarihleri arasında Afyonkarahisar İli Hocalar İlçesinde Serbest Veteriner Hekim olarak çalıştım. 2003-2006 yılları arasında Balıkesir'in Marmara İlçesi'nde Tarım Danışmanlığı yaptım. 2006-2010 yılları arasında Niğde İli Altınhisar İlçesi Tarım Müdürlüğü'nde çalıştıktan sonra 2010 yılında Eğirdir İlçe Tarım Müdürlüğü'ne atamam yapıldı ve halen Eğirdir İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü'nde Veteriner Hekim olarak çalışmaktayım. Evli ve üç çocuk annesiyim.