

**PNÖMONİLİ KOYUN VE KEÇİLERDEN MİKOPLAZMALARIN
İZOLASYONU İDENTİFİKASYONU VE ANTİBİYOTİKLERE
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Uzm. Veteriner Hekim Leyla GÜLER
Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DANIŞMAN
Doç.Dr. Mehmet ATEŞ

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO.

GİRİŞ.....	: 1
LİTERATÜR BİLGİSİ	: 3
MATERYAL VE METOT	: 26
BULGULAR.....	: 34
TARTIŞMA VE SONUÇ	: 42
ÖZET	: 52
İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	: 54
LİTERATÜR LİSTESİ	: 56
TEŞEKKÜR.....	: 67
ÖZ GEÇMİŞ	: 68

TABLO VE RESİM LİSTESİ

SAYFA NO.

Tablo - 1 : Çalışmada incelenen pnömonili akciğer örneklerinin kaynaklarına göre dağılımı ve etken izolasyon oranları	34
Tablo - 2 : İzole edilen mycoplasma suşlarının kaynaklarına göre dağılımı.....	35
Tablo - 3 : Mycoplasma izolasyonu yapılan örneklerdeki etkenlerin dağılımı	36
Tablo - 4 : İzole edilen mycoplasma suşlarının biyokimyasal özellikleri	39
Tablo - 5 : <i>M. ovipneumoniae</i> ve <i>M. arginini</i> suşlarının bazı antibiyotiklere duyarlılıkları	40
Tablo - 6 : 52 akciğer örneğinin histopatolojik bulguları ve izole edilen mikroorganizmaların dağılımı	41
Resim - 1 : <i>M. ovipneumoniae</i> kolonilerinin mikroskopik görüntüsü	37
Resim - 2 : <i>M. arginini</i> kolonilerinin mikroskopik görüntüsü.....	37
Resim - 3 : <i>M. mycoides subsp. capri</i> kolonilerinin mikroskopik görüntüsü.....	38
Resim - 4 : <i>M. agalactiae</i> kolonilerinin mikroskopik görüntüsü	38

GİRİŞ

Koyun - keçi yetiştiriciliği, bitki örtüsü ve kalitesi bakımından yetersiz mera alanlarını en iyi şekilde değerlendirme yeteneğine sahip olmaları nedeniyle dünyanın bir çok ülkesinde olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak yapılmaktadır. Sayısal olarak koyun - keçi varlığıyla dünyada ön sıralarda yer almamıza rağmen sahip olunan bu popülasyondan elde edilen ürünlerin kalite ve kantite olarak istenilen düzeyde olmadığı görülmektedir. Bunun nedenlerinden biri de enfeksiyöz hastalıklardır.

Enfeksiyöz hastalıklar içerisinde pnömoniler, yemden yararlanamama ve canlı ağırlık artışında azalma, büyümede gecikme, ölüm ve ilaç masrafları gibi nedenlerle en büyük problemlerden birini oluşturmaktadır. Pnömoniler genellikle polimikrobiyal bir etiyolojiye sahip olup, bu etkenler arasında bakteriler, mikoplazmalar, klamidyalar, virüsler ve parazitler yer almaktadır. Bakım-besleme hataları, ani iklim değişiklikleri, tozlu solunum havası, yorgunluk, nakil, vücut direncini azaltan diğer hastalıklar da pnömonilerin hazırlayıcı ve şiddetini artıran faktörlerdir.

Küçük ruminantların mikoplazma enfeksiyonları (primer yada sekonder) tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. Mikoplazmaların primer etken olduğu agalaksi ve keçi ciğer ağrısı hastalıkları hakkındaki bilgiler çok eskilere dayanmasına rağmen koyun ve keçilerin solunum sistemi mikoplazmaları konusundaki çalışmalar uzun süre ihmal edilmiştir. Bunun nedenleri; bakteriyel enfeksiyonların (özellikle *P. haemolytica* ve *P. multocida*'nın) klinik ve patolojik tabloyu komplike etmeleri, mikoplazmalara ait bulguları gizlemeleri ile mikoplazmaların izolasyonundaki zorluklardır. Mikoplazmaların

tanınmasında son yıllarda meydana gelen gelişmelere rağmen patogenezis ve epidemiyolojileri ile ilgili bazı konular halâ açığa kavuşmamıştır.

Ülkemizde de yapılan çalışmaların çoğuagalaksi ve keçi ciğer ağrısı hastalıkları konularında yoğunlaşmış olup genel olarak koyun-keçi pnömonilerinde mikoplazmaların rolü konusundaki çalışmalar az sayıdadır.

Bu çalışmada koyun varlığıyla önemli bir yere sahip olan Konya Bölgesinde koyun-keçi pnömonilerinde mikoplazmaların rolünün ortaya konulması amaçlanmıştır.



LİTERATÜR BİLGİSİ

Koyun yetiştirilen birçok ülkede yaygın olarak görülen solunum sistemi enfeksiyonları çeşitli bakteri, mikoplazma, klamıdy, virus, mantar ve parazit türleri tarafından oluşturulan oldukça kompleks bir etiyolojiye sahip olup, ekonomik kayıpların başta gelen sebepleri arasındadır (10, 13, 30, 58, 59, 60, 72).

Bir enfeksiyonda her ne kadar bir etken primer patojen olarak kabul edilirse de solunum sistemi enfeksiyonları çoğunlukla birden fazla mikroorganizmanın olaya katıldığı miks enfeksiyonlar şeklinde seyreder. Sekonder mikroorganizmalar enfeksiyonun ağırlaşmasına ve ölümle sonlanmasına neden olurlar (72). Patojen olarak kabul edilen birçok etkenin sağlıklı hayvanların burun florasında da bulunması nedeniyle stres faktörlerinin özellikle soğuk, yağışlı ve rutubetli çevrenin hastalığın ortaya çıkması ve ağırlaşmasında önemli rolü olduğu bilinmektedir (10, 73, 74). Populasyonun yoğunluğu, çevre şartları, hayvanların duyarlılığı, yaşı, immünitesi, mikroorganizmanın patojenitesi ve miktarı gibi faktörler tek başlarına veya birlikte solunum sistemi enfeksiyonlarının şiddetini, bulaşma ve yayılma hızını önemli derecede etkilemektedirler (50).

Enfeksiyöz etkenlerin meydana getirdiği pnömoniler genç koyunların en yaygın hastalıklarından olmasına rağmen patolojik olarak kesin bir tanımı yapılamamıştır. Patolojik bulgulara göre pnömoniler genel olarak *eksüdatif pnömoni* (akut pnömonik pastörellozis) ve *kronik proliferatif lezyonlar* (atipik pnömoni) olarak sınıflandırılmaktadır (94). Ancak patolojik olarak sınıflandırılan bu iki pnömoni tipi etiyolojik olarak tanımlanabilen belirli hastalıklardan ziyade bir dizi lezyon tiplerinin en uç noktalarını temsil etmekte olup bunların arasında yer alan şekiller de vardır ve özellikle mezbahe sürveylerinde histopatolojik olarak değişik lezyonlarla karşılaşılmaktadır (30,61). Lezyonların çok iyi tanımlanamadığı böyle kompleks etiyolojili bir hastalık için Koch postulatlarının yerine getirilmesi de güçtür (30).

Koyun ve keçilerin solunum sisteminden yaygın olarak izole edilen et-

kenlerden olan *mycoplasmalar*, kendi kendine çoğalabilen en küçük ve en basit prokaryotlardır. Mycoplasmaları diğer prokaryotlardan ayıran tek ve en önemli özellik hücre duvarının bulunmamasıdır. Özel morfolojileri ve değişik şekillerde (yuvarlak, oval, branşlı ya da helikal) bulunabilmeleri, ozmotik şoka, alkollere, organik çözücülerle lizise, deterjanlara, spesifik antikor + komplemente duyarlılıkları, 0,45 µm'lik milipor filitrelerden geçebilmeleri, ortası düğmeli koloniler oluşturmaları, penisilin ve benzeri peptidoglikan sentezini spesifik olarak inhibe eden diğer antibiyotiklere dirençlilikleri gibi çoğu farklı özelliklerinden bu durum sorumludur. Bu özelliklerin çoğu bakterilerin *L form*larında da bulunur (6, 33, 38, 62, 83, 84, 87, 93).

Mycoplasmalar genellikle fakültatif anaerob mikroorganizmalar olup üremeleri ve metabolizmaları için gerekli birkaç hücresel organelle sahiptirler. Bunlar hücre membranı, ribozomlar ve karakteristik prokaryotik genomdur. Mezosomlar gibi intramembranöz yapılara sahip değildirler. Mycoplasma membranı esas olarak iki katlı bir fosfolipid tabakasından ibarettir. "Sıvı mozaik model" olarak adlandırılan böyle membranlarda proteinler fosfolipid tabakası içerisinde yüzmektedir. Lipidler, çoğunlukla fosfolipid ve glikolipidler olmasına rağmen sterol gerektiren türlerde membran ayrıca önemli miktarda kolesterol ihtiva eder (38, 70, 83, 84, 87, 88).

Bazı mycoplasma türleri konakçı hücre membranına tutunmada rolü olan çıkıntılara sahiptir. Bazı türlerde de hücre yüzeyi kapsüler bir materyal ile kaplıdır. Bu ekstraselüler metaryalin kimyasal yapısı tam olarak bilinmemektedir. Ancak genellikle *ruthenium red* (ökaryotik hücrelerin polisakkarit glikokalikslerini göstermek için kullanılan bir boya) boyası ile boyanırlar. Bu metaryalin fagositozisi inhibe ederek ya da konakçı hücre yüzeyine yapışmayı kolaylaştırarak patogenezişte rol oynayabileceği öne sürülmektedir (83, 84, 87).

Mycoplasmalar ilk olarak Nocard ve Roux(1898) tarafından sığırlarda *bulaşıcı plöropnömoni* etkeni olarak izole edilmişlerdir. Koyun ve keçilerde ilk *mycoplasma*

izolasyonu ise *bulaşıcı agalaksiya* enfeksiyonunun etiyolojisinin araştırılması sonucunda yapılmıştır. Asya ve Avrupa'da sürüleri uzun süre etkileyen hastalığın etkeni Bridre ve Donatien (1923) tarafından tanımlanmıştır ve araştırmacılar şimdi *M.agalactiae* olarak bilinen etkenin bulaşıcı sığır plöropnömonisinin etkenine benzediğini göstermişlerdir (15, 20). Daha sonra Longley (1951) *keçi ciger ağrısı* etkeninin de benzer morfolojiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Etkenlerin bu benzerlikleri nedeniyle "*Pleuropneumonia Like Organisms*" (PPLO) olarak adlandırılmışlardır (20, 67). Bu genel sınıflandırma Edward ve Freundt (1956) tarafından yeni bir sınıflandırma yapıncaya kadar kullanılmıştır. Edward ve Freundt(33)'un yaptıkları sınıflandırma esas alınarak yapılan Bergey's Manual of Sistematic Bacteriolog'ye göre mycoplasmalar, *Procaryote* alemi içinde *Tenericutes* bölümünde *Mollicutes* sınıfında yer alan 3 takımdan *Mycoplasmatales* takımında yer almaktadırlar (diğer ikisi *Acholeplasmatales* ve *Anaeroplasmatales*'tir). Bu takımda bulunan iki familyadan biri olan *Mycoplasmataceae*'da insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan 2 cins bulunmaktadır. Bunlar *Mycoplasma* ve *Ureaplasma*'dır. Diğer familya *Spiroplasmataceae* tek bir cins *Spiroplasma*'yı bulundurmaktadır. *Acholeplasmatales* takımındaki tek familya *Acholeplasmataceae*'da yer alan *Acholeplasma* cinsine bağlı türler de koyun ve keçilerden izole edilmesine rağmen patojen olarak kabul edilmemektedir (87).

Doğada insan, hayvan, bitki ve artropodlarda, patojen, kommensal veya saprofit olarak bulunmalarına rağmen mycoplasmaların çoğu konakçıya spesifiktirler. Bu nedenle mycoplasma türleri genellikle konakçılarına (insan, koyun, keçi, sığır, kanatlı, kedi, köpek, fare gibi) göre sınıflandırılırlar (110). Koyun ve keçi mycoplasmaları genellikle birlikte ele alınmaktadır. Çünkü bazı türler yalnızca bu konakçılarda bulunduğu halde diğerlerinde bulunmamaktadır. Ancak bazı türler ya yalnızca keçilerde ya da yalnızca koyunlarda bulunur.

Koyun ve keçilerden bir çok mycoplasma türü izole edilmiştir. Bunlardan bazıları yalnızca bir ya da birkaç kez izole edilmiş ve hastalık oluşturmadaki rolleri

açıklık kazanmamıştır (20, 29).

Koyun ve keçilerde bulunan mycoplasma türleri hakkında aşağıda kısa bilgi verilmiştir.

***M.agalactiae*:** Koyun ve keçilerin bulaşıcı agalaksiya hastalığının etkenidir. Hastalık, öncelikle Akdeniz ülkelerinde görülmekle birlikte, dünyanın diğer bölgelerinde de bulunmaktadır. Mortalitesi düşük olmasına rağmen morbiditesinin yüksek olması nedeniyle verim kaybı, tedavi girdileri gibi ekonomik açıdan öneme sahiptir. Agalaksiya terimi hastalıktan yalnızca dişilerin etkilendiğini düşündürmekteyse de hastalığa her iki cins de duyarlıdır. Bulaşıcı agalaksiya'da mastitis, artrit ve keratokonjunktivitis en önemli bulgulardır. Akciğer lezyonları, *M.agalactiae*'nin normal bir özelliği olmamasına rağmen koyun ve keçilerin solunum sisteminden, pnömoni-plörezi vakalarından da izole edildiği, deneysel olarak hayvanlarda hafif akciğer lezyonları oluşturduğu bildirilmektedir (6, 20, 29, 37, 52, 67).

***M.arginini* :** Koyun ve keçilerden sıklıkla izole edilen bu mikroorganizma diğer birçok konakçının da değişik anatomik bölgelerinden izole edilmektedir. Mycoplasmaların genellikle konakçı spesifik olmalarına karşın *M.arginini*, farklı konakçıların değişik organlarından izole edilmesiyle farklılık göstermektedir. Pnömoniili koyun akciğerlerinden sıklıkla izole edilmesine karşın sağlıklı hayvanların nazofarinks, tonsil ve akciğerlerinden de izole edilmektedir. Daha az sıklıkta keratokonjunktivitis, artrit ve vulvovaginitis vakalarından izole edilmiştir. Patogenitesi bilinmemektedir. Ancak solunum sistemi enfeksiyonlarının şiddetlenmesinde ve ağırlaşmasında diğer etkenlerle birlikte sinerjik rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (2, 4, 20, 29, 30, 40, 50, 51, 65, 87).

***M.capricolum*:** Keçiler için patojen olmasına rağmen koyun ve sığırlarda da bulunur. Keçiler için oldukça patojen olup yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden akut ya da perakut bir hastalık oluşturur. Artrit, mastitis ve akciğer lezyonlarına

neden olur. Septisemi nedeniyle tüm organlardan izole edilebilir (17, 20, 26, 28, 29, 87).

***M.conjunctivae*:** Koyun ve keçilerde konjunktivitis keratokonjunktivitise neden olur. Nadiren solunum sisteminden de izole edilmektedir (20, 29, 82, 87).

***Mycoplasma sp. F38*:** Klasik akut keçi ciğer ağrısı (CCPP)'nin esas etkeni olarak kabul edilmektedir. Yalnızca keçiler için patojendir. Septisemi nedeniyle tüm iç organlardan izole edilebilir. *F 38*'in en önemli özelliği klinik olarak akut bir hastalığa neden olması ve çok çabuk yayılmasıdır (29, 51, 52, 69). Ülkemizde de izole edildiği bildirilmiştir (108).

***M.mycooides subsp. capri (Mmc)*:** Son yıllara kadar yalnızca *M.mycooides subsp capri* keçi ciğer ağrısının etkeni olarak kabul ediliyordu. Fakat *F 38* biyotipinin izole edilmesiyle bu görüş değişmiştir. Mmc ile deneysel olarak oluşturulan hastalık büyük ölçüde toraks boşluğu ile sınırlı olup septisemik faz ve ölüm her zaman görülmez. Deri altı enjekte edildiğinde lokal ödem reaksiyonu görülür. Deneysel olarak koyunlarda da hastalık oluşturabilir. Buna karşılık *F38*, duyarlı keçilere kolayca bulaşarak akut bir hastalığa neden olur. Lokal ödematöz reaksiyonlara neden olmaz, koyun ve sığırları etkilemez (20, 51, 52, 69).

***M.mycooides subsp. mycooides (Mmm)* :** *M.mycooides subsp. mycooides*'in serolojik olarak birbirinden ayıramayan ancak üreme özellikleri ve bazı biyokimyasal özellikleri ile ayrılabilen 2 varyantı vardır. Çabuk üreyen "Büyük koloni"(LC) olarak adlandırılan tipi çoğunlukla keçilerde enfeksiyon oluşturur. Keçi ciğer ağrısının etkenlerinden biri olarak da bilinir. Nadiren koyun ve sığırlardan izole edilmiştir."Küçük koloni"(SC) tipi ise bulaşıcı sığır plöropnömonisi (CBPP)'nin etkeni olup yalnızca sığırlarda bulunur(52,69). Keçilerden çok nadir olarak izole edilmektedir (91). Mmm (LC), bireysel pnömoni veya plöroprömoni olaylarından izole edilmesine rağmen, salgınlarda esas özelliği süt emen yavrularda septisemiyle birlikte artritise sebep olmasıdır (27). Yapılan deneysel bir çalışmada (48)koyunların

da *Mmm(LC)* ile enfeksiyona duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Hayvanlarda ateş, topallık, purulent poliartritis, hafif intersitisyel pnömoni, meningoensefalitis ve enteritis görülmüştür. Da Massa ve ark. (25) ABD'de mastitis, poliartritis ve pnömonili keçilerde yaptıkları bir sörveyde *Mmm(LC)*'nin oldukça yaygın olduğunu bildirmektedirler. Değişik semptomlarla seyreden bireysel pnömoni olgularından izolasyonla klasik keçi ciğer ağrısı için Koch postulatlarının yerine getirilemediği, ancak F38'in Koch postulatlarına uyduğu bildirilmektedir (69). *Mmm(LC)*'nin esas olarak başka bir etken tarafından oluşturulan primer lezyonlarda, özellikle F38 tarafından meydana gelen CCPP enfeksiyonlarının iyileşme dönemindeki gerilemekte olan lezyonlarda kolonize olduğu, bu nedenle daha güç üreyen F38 suşuna göre çok kolaylıkla ürediğinden esas etiyolojik etkeni tespit etmede yanılmalara neden olabileceği belirtilmektedir (69).

***M.ovipneumoniae*:** Koyunların solunum sisteminin tüm dünyada en yaygın konakçısıdır. Subklinik pnömoni vakalarında koyun akciğerlerinden sıklıkla izole edilmektedir (3, 4, 18, 20, 53, 72, 96). Pulmoner adenomatozlu koyun akciğerlerinden (56, 64, 68), konjunktivadan (87), sağlıklı koyunların solunum sisteminden (4, 11, 17, 56) ve keçilerde de pnömonik lezyonlardan izole edilmiştir (46, 76, 77, 87, 98). Koloni morfolojisi diğer türlerden farklı olup, normal agar konsantrasyonundaki(% 1,5-2) katı besiyerinde merkezsiz vakuollü ya da granüllü bir görünümündedir. Ancak düşük agar konsantrasyonunda (yaklaşık % 0.7) merkezli koloniler oluşturabilmektedir (18, 20).

***M.putrefaciens* :** Sıvı besiyerinde oluşturduğu kuvvetli bir kokuşma kokusundan dolayı bu isim verilmiştir. Keçilerde mastitis ve artritise sebep olur (20, 26, 28, 29, 87).

Koyun ve keçilerden yaygın olarak izole edilen bu mycoplasma türlerinden başka az rastlanan diğer mycoplasma türleri de bulunmaktadır. Bunlar; *M.bovirhinis*, *M.bovis* ve henüz isimlendirilemeyen türler; *Mycoplasma sp.HRCG145*

(bir keçinin ayağından), *Mycoplasma sp.A1343* (keçi akciğerinden), *Mycoplasma sp.2D* (koyunların ürogenital sisteminden), *Mycoplasma sp.G*, *Mycoplasma sp.U* ve *Mycoplasma sp.V* (keçilerin dış kulak kanalından), ayrıca *Acholeplasma* türleri; *A.axanthum* (genital sistemden) *A. laidlawii*, *A. granularum* (solunum ve genital sistemlerden), *A. oculi* (gözden) ve *Ureaplasma*lar (genital ve solunum sistemlerinden) (20, 29, 50, 93) dir.

Mycoplasma lar ve bu güç üreyen mikroorganizmaların izolasyon tekniklerinin geliştirilmesi üzerine giderek artan ilgi, birçok hayvan türünde yaygın olarak bulunduklarını ve değişik patolojik olaylarla ilişkilerini göstermiştir. Doğada bitki ve hayvanlarda geniş yayılımları ve hayvanlardaki mycoplasma enfeksiyonlarının patolojisi ile insanlardaki otoimmün reaksiyonlar; romatoid artrit, poliarteritis vs. arasında çok sıkı benzerlikler bulunmasına rağmen insanlarda *M. pneumoniae*, *Ureaplasma* lar ve diğer birkaç tür dışında mycoplasmaların neden olduğu bir hastalık bulunmamaktadır (83, 110) .

Mycoplasma lar hayvanlarda muköz membran yüzeylerine kolonize olurlar, bu nedenle solunum, gastrointestinal ve ürogenital sistemlerde bulunabilirler. Epitelial yüzeylere sıkıca yapışan ve kolonize olan mycoplasma larla konakçı hücre arasındaki sıkı ilişki sonucu mikroorganizmaların salgıladığı toksik ürünler (H_2O_2 , NH_3) birikerek doku hasarına neden olurlar. Konakçı hücre yüzeyi ile sıkı ilişki mikroorganizmalara bir beslenme avantajı sağlar. Yalnızca konakçı hücre membranına yoğun bir şekilde adsorbe olan besinleri almakla kalmayıp, membran yapısında bulunan lipid ve kolesterolü de kullanırlar. Mycoplasma larlarda son solunum ürünü olan H_2O_2 , en önemli patojenik faktör olarak ileri sürülmekle birlikte apatojenik mycoplasma larlarda da H_2O_2 üretiminin olması bunu tamamıyla doğrulamamaktadır. Şimdiye kadar *M. neurolyticum*'un salgıladığı solubl bir ekzotoksin dışında hiçbir mycoplasma türünde gerçek bir ekzotoksin ortaya konamamıştır (83, 84, 110).

M. pneumoniae enfeksiyonunda, mikroorganizmanın membranında sahip olduğu çıkıntılar vasıtasıyla konakçı hücre ile oluşan sıkı ilişkisi sonucu peroksit salınımının toksik etkisi görülmekte; ancak elektron mikroskop ile *M. ovipneumoniae* ile epitel hücre yüzeyindeki siliolar arasında bir mesafe olduğu, mikroorganizmanın tutunma için özel yapılara sahip olmadığı tesbit edilmiştir. Bu nedenle hidrojen peroksit üretiminin bronş ve bronşöler düzeyde etkili olmadığı, intersitisyel pnömoni oluşumu, peroksidi de içeren mycoplasmal ürünlerin alveoler düzeyde iritan etkilerine bağlanmaktadır (50).

CBPP, CCPP ve koyun ve keçilerin Contagious Agalactia etkenleri dışındaki çoğu mycoplasmalar kommensal hatta müköz membranların (özellikle üst solunum sistemi, ağız ve genital kanal) doğal mikroflorasının komponenti olarak kabul edilirler. Mycoplasma-konakçı etkileşiminin sonucu konakçının cinsi yaşı, beslenme durumu, genetik konstitüsyonu ve çevre faktörleri, ile etkene ait faktörlere bağlı olarak değişir (38). Mycoplasmalar çoğu hayvanlarda yaşam boyu süren kronik enfeksiyon oluştururlar. Mycoplasma enfeksiyonlarının histopatolojik bulguları farklı hastalıklarda değişmesine rağmen yaygın olarak görülen tek özellik kronik yangıdır. Mycoplasma enfeksiyonlarında humoral ve selüler savunma mekanizmaları uyarılmakla beraber bu cevapların koruyucu immünitedeki rolleri bilinmemektedir. Doğal olarak kazanılan koruyucu bağışıklık süresi kısa ve sık sık reenfeksiyonlar görülebilir (50, 53, 67, 110).

Mycoplasmalar konakçı savunma sistemlerinden kaçma yeteneğine sahiptirler. Bunda birçok faktörün rolü vardır. Bazı mycoplasmaların konakçı hücre yüzeyine sıkıca yapışmaları mukosiliyar temizleme ve fagositozise karşı bir direnç sağlayabileceği gibi bazen de konakçıda bir immünoşüpresif etki oluşturmaktadır. Mikroorganizmanın plazma membranını konakçınıninkinden ayıracak hücre duvarı bulunmadığından iki membran arasında antijen değişimleri görülebilir. Bu durum, immün sistemin mycoplasmaların antijenlerini tanıma yeteneğini azaltmaktadır (39,

69, 110). Mycoplasmalar hücre duvarına sahip olmadıklarından yüzey antijenleri hücre membranında bulunmaktadır. En önemli yüzey antijenleri glikolipid ve proteinlerdir. Diğer enzim proteinleri ve nükleik asitler gibi antijenler, intraselüler olarak bulunduklarından ancak mikroorganizmanın parçalanması ile açığa çıkabilirler. Mycoplasma antijenlerinin tanımlanmasında antijenite ve immunojenite arasında bir ayırım yapılması gerekir. Glikolipidler komplemant fiksasyon ve üreme inhibisyonunda etkili antijenler olmasına rağmen genellikle zayıf immünojeniktirler. Protein antijenlerin ise yaygın olarak kullanılan birçok serolojik test teknikleriyle ortaya konulabilecek antikörleri uyarmadığı, fakat hücre aracılı reaksiyonlardan sorumlu antijenler oldukları ileri sürülmektedir (39).

Mycoplasmaların dış ortamda dirençleri zayıf olduğundan enfekte bir hayvandan duyarlı bir hayvana bulaşmaları, yakın teması gerektirir. Bulaşma genellikle solunum yoluyla ve daha az olarakta oral yolla olur (Özellikle *M.capricolum* ve *M.mycoides subsp. mycoides* (LC) türleri için). Keçiler memeleri enfekte olan anelerinden süt emerek bu etkenleri almaktadırlar. *M.agalactiae*, *M.capricolum*, *M.mycoides subsp. mycoides*(LC) ve *M.putrefaciens* meme başı kanalı yoluyla da enfeksiyon oluşturabilirler (27, 29, 67).

Son yıllarda enfekte ve klinik olarak normal keçi ve sığırların dış kulak kanalından bazı patojen mycoplasma türleri (*M.mycoides subsp. mycoides* (LC), *M.capricolum*, *M.putrefaciens*, *M.agalactiae*, *M.mycoides subsp. capri* ve *Mycoplasma sp.G. U. V.*) izole edilmiştir. Bu etkenlerin çoğunlukla kulak uyuzu etkenleri *P.cuniculi* ve *R.caprae* ile birlikte bulunmasına dikkat çekilmektedir. Tek bir uyuz etkeninden çok sayıda mycoplasma izole edilmesi nedeniyle bunların hayvanlar arasında mycoplasmaların transferinde rolleri olabileceği ileri sürülmektedir. Mycoplasmaların dış kulak kanalında bulunması burada fazla miktardaki yağlı birikinti ve savunma mekanizmalarından uzak bir ortam olmasına bağlanmaktadır (23, 24).

Genel olarak mycoplasma enfeksiyonlarının çok değişik faktörlerin etkisi al-

tında olduğu kabul edilmektedir. Konakçı, mycoplasma ve çevre arasındaki "epidemiolojik üçgen" değişik şartlarda farklı sonuçlara neden olabilmektedir. Bir kommensalizm durumu, konakçının genel ya da lokal direncinin düşmesi durumunda gerçek bir parazitizme dönüşebilir. Subklinik mycoplasmosis, klinik mycoplasmosis'e dönüşebilir (38). Mycoplasma enfeksiyonlarının klinik bulguları patognomonik değildir ve semptomlar klinik olarak önemli diğer enfeksiyonlarla ortaktır. Böylece bir akut keçi mycoplasma enfeksiyonu kolaylıkla yanlış değerlendirilebilir. Örneğin *M.capricolum* ya da *M.mycoides subsp. mycoides*'in keçi suşları ile akut ya da perakut bir enfeksiyonda hayvanlar aniden ölebilir. Böyle durumlarda histopatolojik değişimler de hafiftir ve rutin teşhislerde bu vakalar herhangi bir mycoplasma enfeksiyondan şüphelenmeksizin etiyolojisi belirlenmeden kalabilir (29).

Klinik ve patolojik bulguların yeterince tanımlayıcı olmaması nedeniyle kesin bir teşhis için sorumlu mikroorganizmanın izole ve identifiye edilmesi gereklidir. Mycoplasmaların identifikasyonları biyokimyasal ve serolojik testlerle yapılmaktadır (6, 7, 8, 14, 21, 38, 93, 107, 109).

Mycoplasmaların familya düzeyinde ayırımları bazı enzimlerin lokalizasyonu ve genomik ölçüler kadar besin gereksinimi ve morfolojik kriterlere dayanır. Üreme için sterole gereksinim *Mycoplasmataceae* ve *Acholeplasmataceae* arasındaki en belirleyici kriterdir (42). Sterole bağımlılığın gösterilmesinde direk ve indirek çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu amaçla *digitonin*'e duyarlılık rutin olarak en yaygın kullanılan yöntemdir (106). Esculin'ın hidrolize edilmemesi ve sodium polyethanol sulphonate (SPS)'a duyarlılık da *mycoplasmataceae* familyasına ait özelliklerdir (50). *Spiroplasmataceae* familyasının üyeleri de sterole ihtiyaç duyar ve üreme fazının bir döneminde helikal morfolojiye sahip olmaları ayırımlarında en önemli kriterdir. Nicotinamid adenin dihydroxy oksidase (NADH) enzimi *Mycoplasmataceae* ve *Spiroplasmataceae* familyalarında sitoplazmada bulunduğu halde, *Acholeplasma*'larda

membranda bulunur. DNA'nın moleköl ağırlığı ise *Acholeplasmataceae* ve *Spiroplasmataceae*'da yaklaşık 1×10^9 dalton iken, *Mycoplasmatataceae* da 5×10^9 dalton'dur (42, 87).

Mycoplasmatataceae familyasında bulunan *Mycoplasma* ve *Ureaplasma* cinslerinin ayırımı ürenin hidrolizine dayanır. Diğer familyalarda yalnızca birer cins (*Acholeplasma* ve *Spiroplasma*) bulunduğundan bunlar familya özellikleri ile karakterize edilirler. Mycoplasmaların tür düzeyinde ayırımları için glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, fosfataz aktivitesi, film ve spot oluşumu, proteolitik aktivite, tetrazolium redüksiyonu gibi biyokimyasal testler uygulanmaktadır (35, 62, 107). Bütün *Acholeplasma* türleri glikozu fermente edip arjinini hidrolize edemedikleri halde mycoplasma türleri arasında bunlar değişmektedir (42). Tür düzeyindeki ayırımın son aşaması serolojik testlerdir. Bu amaçla, üreme inhibisyon (GI), metabolik inhibisyon (MI), indirekt immünofloresan (IMF) testleri yaygın olarak kullanılmaktadır (4, 7, 14, 19, 21, 50, 52, 87, 109). Bu testler yüzey antijenleri ile ilgili olup türler arasındaki antijenik yakınlıkların ortaya konması amacıyla ise sitoplazmik ve diffüze olabilen antijenlerle ilgili olan presipitasyon, double immünodiffüzyon ve double immünoelektroforezis testleri uygulanır (7, 8, 36, 42, 87).

Özellikle keçi mycoplasmaların identifikasyonunda güçlüklerle karşılaşilmektedir. F38 biyotipi, *M. mycoides subsp. capri*, *M. mycoides subsp. mycoides*, *M. capricolum* ve sığırların ürogenital sisteminden izole edilen Leach'in Bovin Grup 7 türleri ortak antijenlere sahiptirler. Bu mikroorganizmalar "*M. mycoides kümesi*" olarak tanınmaktadır. Bu küme içerisinde de etkenler iki gruba ayrılırlar. Birinci grupta *M. mycoides subsp. mycoides* (SC), *M. mycoides subsp. mycoides* (LC) ve *M. mycoides subsp. capri*; ikinci grupta ise F38 biyotipi, *M. capricolum* ve Leach'in Bovin Grup 7 türleri yer alır (52).

M. mycoides subsp. mycoides-SC (Sığır tipi) ve LC (keçi tipi) çoğu biyokimyasal özellikleri ve serolojik olarak birbirlerinden ayırt edilemezler. Ancak hastalık oluş-

turdukları konakçı tipi, protein kompozisyonları, bazı kültürel ve biyokimyasal özellikleri ile ayırt edilebilirler (20, 52). *LC* suşlarında kazein sindirimi ve serum erime testleri pozitif olup 45°C'de 48 saat veya daha fazla (çok az kayıpla) canlı kalabilirler. *SC* suşlarında ise kazein sindirimi ve serum erime testleri negatif olup 45°C'de 12 saat içinde ölürler. *LC* suşları *SC* suşlarından daha çabuk ürer ve kolonileri daha büyüktür (21). Ayrıca farelerde yapılan çapraz koruma testlerinde farklılık gösterirler (91). *M. mycoides subsp. capri* ise serolojik olarak *M. mycoides subsp. mycoides (LC)*'den ayrılmasına rağmen protein kompozisyonu bakımından *SC* tipine göre daha yakın ilişkilidirler (21, 52). *F38* biyotipi *Bovine Gurup 7* suşu ile serolojik olarak (hem membran, hem sitoplazmik antijenleri bakımından) yakın ilişkili olmasına rağmen protein kompozisyonları bakımından farklılık ve % 60 DNA homolojisi gösterirler. Buna karşılık *M. capricolum* ve *F38* arasında üreme inhibisyon ve immünfloresan testleri ile kros reaksiyon bulunmamasına rağmen protein kompozisyonları oldukça benzerdir ve % 80 DNA homolojisi gösterirler. Fakat diğer birçok karakterleri bakımından iki tür birbirinden farklıdır (52).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada değişik yörelerden izole edilen *M. mycoides subsp. capri* suşlarının jel elektroforezis ile farklı protein kompozisyonlarına sahip oldukları, patojen olmayan *N* tipi (*M. arginini* olması muhtemel) suşlarının ise protein bandlarının benzer olduğu bildirilmektedir (36). Buna karşılık yapılan diğer çalışmalarda uygulanan biyokimyasal ve serolojik (aglutinasyon, komplement fiksasyon, üreme inhibisyon ve agar jel diffüzyon) yöntemlerle yurdumuzda salgın keçi ciğer ağrısı olaylarından izole edilen *M. mycoides subsp. capri* suşları arasında herhangi bir antijenik farklılık belirlenememiştir (7, 8, 14, 22).

Mycoplasmaları üretmek için zenginleştirilmiş bir besiyerine gerek vardır. Mycoplasma türlerini diğer bakterilerden ayıran en önemli özelliklerden biri üremeleri esnasında membran sentezi için kolesterole ihtiyaç duymalarıdır. Şimdiye kadar incelenen hiç bir mycoplasma türü, sterol gerektirmeyenler de dahil kolesterol sentezleyememektedirler (83, 88). Kolesterol ihtiyacı için en uygun kaynak serum ile

sağlanır. Bu amaçla besiyerlerine % 10-20 oranında at ya da domuz serumu katılmaktadır. Temel olarak mycoplasma besiyerleri bir protein infüzyon besiyerine serum, maya faktörleri, glikoz, arjinin ve bakteriyel inhibitörlerin katılmasıyla hazırlanır. Üreme indikatörü olarak besiyerine fenol kırmızısı ya da trifenil tetrazolium klorid katılır, % 5-10 CO₂'li ve nemli ortamın üreme üzerine olumlu etkisi vardır (21, 35, 43, 87, 93, 112).

Koyun ve keçilerin bulaşıcı agalaksiya ve keçilerin bulaşıcı plöropnömonilerinin etkenleri konusundaki çalışmalar çok eskilere dayanmasına rağmen küçük ruminantların mycoplasmaları konusundaki çalışmalar, özellikle solunum sistemi mycoplasmaları uzun yıllar ihmal edilmiştir. Bunun başlıca nedenleri; çok sık karşılaşılan bakteriyel enfeksiyonlar, özellikle *P. haemolytica* ve *P. multocida*'nın klinik tabloyu ve lezyonları komplike ederek mycoplasma enfeksiyonunu gizlemeleri ile mycoplasmaların laboratuvarında izolasyon ve üretilmesinde karşılaşılan güçlüklerdir (67).

Koyunların solunum sisteminden *mycoplasma* izolasyonu ilk olarak Greig (47) ve ülkemizde yine aynı yılda Durusan ve Doğuer (32) ile Aktan ve ark. (1) tarafından bildirilmiştir. Durusan ve Doğuer 1953-54 yılları yaz aylarında Konya Bölgesinde pnömoni şikayetleri bulunan sürülerden alınan ve Etlik Enstitüsüne alt kuzuların pnömonili akciğerlerinden 7 *mycoplasma* suşu ve *C. pyogenes* izole etmişlerdir. İzole edilen *mycoplasma* suşlarının koyun, kuzu ve keçilere tekrar inokülasyonu ile herhangi bir hastalık belirtisi oluşturulamamıştır.

Erdağ. ve ark. (37) koyun ve keçilerin bulaşıcı agalaksiya hastalığı üzerine yaptıkları çalışmalarda izole ettikleri suşları A, N ve C diye üç tipe ayırmışlardır. Tıp A'nın asıl agalaksiya etkeni, Tıp C'nin keçi plöropmonisi ile ilgili olduğu, sağlam ve enfekte sürülerde burun ve göz mukozalarından izole edilen Tıp N'in ise patojen olmadığını bildirmişlerdir. Foggie ve ark. (40) N tipi olarak adlandırılan bu mikroorganizmanın biyokimyasal ve kültürel özellikleri ile *M. arginini* olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Genel olarak koyun pnömonilerinin nedenleri, epidemiyolojisi ve patogenezi henüz yeterince aydınlatılamamıştır. Akut lezyonlardan *P. haemolytica* saf kültür halinde izole edilmesine rağmen kuzularda yaygın olarak görülen çoğu subklinik pnömonilerde nadiren tek başına, genellikle mycoplasma ve diğer çeşitli bakterilerle birlikte bulunmaktadır. Aynı zamanda sağlıklı hayvanların nazoforinks, burun sekresyonları ve akciğerlerinde de bulunmakta, ancak akciğerlerden hızla uzaklaştırılmaktadır (10, 11, 12, 30, 53, 60). Genel olarak çeşitli viruslar, *M. ovipneumoniae* ve *C. psittaci* ile olan enfeksiyonlardan sonra pozisyon yaratan çeşitli faktörlerin de etkisiyle akciğerlerin normal savunma mekanizmasının bozulduğu ve sekonder olarak bakterilerin (özellikle *P. haemolytica*) akciğerlere yerleşip çoğalmasıyla pnömoni olduğu ileri sürülmektedir. Bu nedenle bakteriler çoğu akciğer lezyonundan sorumlu tutulmalarına rağmen daha önce hasara uğramış akciğer dokusunun sekonder istilacı olarak görülmektedir. (30, 53, 59, 72). Bazı pnömotrop virusların (PI3, adenovirus, koyun çiçeği, küçük ruminantların veba, respiratory syncytial virus, reovirus ve maedi-visna virusları gibi) tek başlarına klinik olarak pnömoni oluşturamayacakları, klinik hastalık oluşturabilmeleri için bakteri ya da mycoplasmaların katılımının gerekli olduğu belirtildiği gibi bazı ülkelerde tek başlarına da pnömoni oluşturabilecekleri belirtilmektedir (72).

Genellikle öldürücü, klasik "enzootik pnömoni" ya da "pastörellozis" ten ayırmak için böyle adlandırılan koyunların "atipik pnömoni" si, ilk olarak patolojik bulgulara dayanılarak tanımlanmıştır (94). Hastalığı ifade etmek için *lober* ya da *enzootik pnömoni* ve *proliferatif eksudatif pnömoni* (doğal atipik pnömoniden ayırt edilemeyen, deneysel olarak oluşturulan pnömoni) isimleri kullanılmaktadır (53). Hastalığa neden olan mikroorganizmalar hakkındaki bilgilerin artmasına rağmen hastalığın tanımı hala patolojik kriterlere göre yapılmaktadır. Genellikle 2-12 aylık kuzuların etkilendiği hastalık kronik, non-progressif, çoğunlukla subklinik ve nadiren öldürücüdür. Hastalığın başlıca etkenlerinin *M. ovipneumoniae* ve *P. haemolytica* biyotip A serotiplerinin olduğu, fakat diğer birçok mikroorganizmaların (*M.*

arginini, *C. psittaci*, *P. multocida*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, Koliform'lar, *A. laidlawii* ve *Ureaplasma*'lar gibi) da atipik pnömoni lezyonlarından izole edildiği bildirilmektedir (10, 53).

Atipik pnömonilerin primer etkeni olarak kabul edilen *M. ovipneumoniae* *Mycoplasmatales* takımının tipik bir üyesi olup, karbonhidratları fermente eder ve katı besiyerinde merkezsiz koloniler oluşturur. Koloniler agar içerisine penatre olmazlar ve genellikle orta kısımlarındaki birçok küçük vakuollerle granüler bir görünümüne sahiptirler, tamamen geliştiklerinde çapları 80-200 µm arasında değişir, koyun, sığır ve at eritrositlerini hemolize ederler. Elektronmikroskop çalışmaları ile *M. ovipneumoniae*'nin diğer mycoplasmalardan nisbeten büyük olup hücre çapının genellikle 400-700nm arasında değiştiği ve ikiye bölünerek çoğaldığı gösterilmiştir (4, 18, 20, 21, 50, 56, 70).

Koyunların solunum sisteminden glikolitik mycoplasmaların izolasyonu ilk olarak Mackay ve ark. (68) tarafından pulmoner adenomatozisli koyun akciğerlerinden yapılmıştır. Araştırmacılar o zaman izole edilen mycoplasmaların hastalığın etiyolojisinde rolü olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Daha sonra da pulmoner adenomatozis'inin etiyolojisini araştırma çalışmaları süresince koyunların burun ve akciğer tümörlerinden mycoplasmalar izole edilmiştir. Krauss ve ark. (64) yaptıkları çalışmada izole edilen mycoplasma suşlarını kültürel özellikleri ve koloni morfolojilerine göre ikiye ayırmışlardır. Birinci tip koloniler merkezli ve daha çabuk gelişmekte, ikinci tipler ise merkezsiz olup daha yavaş gelişmektedirler. Ancak karbonhidratları kullanma bakımından bir sınıflandırma yapılamadığından koloni morfolojilerindeki bu farklılıkların bir serogrup özelliği değil, suşların bireysel özellikleri olabileceği ileri sürülmüştür. Araştırmacılar pulmoner adenomatozisin asıl etkeninin bir virus olmasına rağmen mycoplasmaların hastalığın gelişimi ve sonucunu etkileyebileceğini bildirmişlerdir.

St. George ve ark. (97). Avustralya'da gelişme geriliği, hareket güçlüğü ve

dinlenmede bile solunum güçlükleri görülen, yüksek morbidite ve düşük mortalite ile seyreden vakaların görüldüğü kuzu sürülerinden, etiyolojik etkeni tesbit etmek amacıyla yaptıkları çalışmalarda herhangi bir virus ve chlamydia izole edemelerine rağmen merkezsiz koloni oluşturan mycoplasma suşları izole etmişlerdir. Histopatolojik incelemelerde proliferatif intersitisyel pnömoni tanısı konulmuş ve aynı bulgular deneysel olarak koyunlara lezyonlu akciğer süspansiyonlarının inküasyonuyla da oluşturulmuştur. Aynı bölgede Carmichael ve ark. (18) izole edilen mycoplasmalarla kronik intersitisyel pnömoni arasındaki ilgiyi araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada pnömonili ve sağlıklı iki sürüden iki ay ara ile aldıkları örneklerde pnömonili sürüden ilkinde 38 nazal sıvabın 18'inde *M. ovipneumoniae* (Y98)'i tek başına, 16'sında *M. arginini* ile birlikte izole ederken; ikinci defa alınan 46 nazal sıvaptan 6'sında *M. ovipneumoniae*, 18'inde *M. arginini* ve 15'inde de ikisi birlikte izole edilmiştir. Heriki örneklemede de yüksek oranda izole edilen *M. arginini* sağlıklı hayvanlardan alınan 33 nazal sıvabın 2'sinden izole edilmiştir. Merkezsiz koloniler oluşturduğu glikoz fermentasyonu, tetrazolium redüksiyonu ve hemoliz testlerinin pozitif, arjinin hidrolizi ile film ve spot reaksiyonlarının negatif olduğu bildirilen Y98 Mycoplasma suşları için *M. ovipneumoniae* ismi önerilmiştir. Etkenin koyun akciğerleri için patojen olup *kronik intersitisyel pnömonilerden* sorumlu olduğu belirtilmektedir.

Jones ve ark. (56). İngiltere'de pnömonili, sağlıklı görünen ve pulmoner adenomatozisli koyunlardan izole edilen 9 glikolitik mycoplasma suşu ile *M. ovipneumoniae* Y98 suşunu karşılaştırdıkları çalışmalarında, suşların hepsinin biyokimyasal özellikleri ve antibiyotiklere duyarlılıklarının Y98 ile benzer olduğunu tesbit etmişlerdir.

Değişik ülkelerde yapılan çalışmalarda subakut ve kronik pnömoni vakalarından en fazla mycoplasma türleri (çoğunlukla *M. ovipneumoniae* daha az olarak da *M. arginini* ve diğerleri) *P. haemolytica* ve diğer bakterilerle birlikte arasına

da virus izolasyonlarına rastlanmaktadır (4, 11, 50, 71, 72, 77, 78, 79, 80, 82, 90, 92, 98, 104).

St. George (95) Avustralya'da genç koyunlarda yüksek morbidite ve düşük mortalite ile seyreden, *yaz pnömonisi* olarak adlandırılan vakalarda etiyolojiyi tesbit amacıyla yaptığı çalışmada 66 akciğerin 37'sinde (% 56) *Mycoplasma* sp. 29'unda diğer bakterileri (*Pasteurella* sp., *Neisseria* sp. ve *C. pyogenes*) izole etmiştir. İzole edilen mycoplasma suşlarının kolonilerinin merkezli ve merkezsiz olarak iki grupta olduğu belirtilmiştir. Ayrıca serolojik olarak büyük oranda P1₃ tesbit edilmesine rağmen sadece 4 virus izole edildiği, serolojik ve kültürel olarak chlamydia tesbit edilemediği bildirilmektedir. St. George ve Carmichael (96) *M. ovipneumoniae*'nin neden olduğu hastalığın stres faktörlerinin bulunmasıyla klinik olarak ortaya çıktığını ve bu mikroorganizmanın esas öneminin sekonder bakterilerin yerleşmesine ve çoğalmasına izin vermesinden kaynaklandığını bildirmektedirler.

Sullivan ve ark. (99) Mikoplazma enfeksiyonunun neonatal dönemde başladığını fakat klinik belirti göstermediğini, ancak yaklaşık 6 haftalık yaştan sonra *mycoplasma* miktarındaki önemli bir artışla birlikte *pasteurella* gibi sekonder bakteri kolonizasyonlarına da duyarlılığın arttığını ve klinik belirtilerin ortaya çıktığını bildirmektedirler. Bu dönemde başlangıçtaki proliferatif intersitisyel pnömoni ile ilgili patolojik değişikliklerin suppuratif değişiklikler ve peribronşial lenfoid hiperplazi ile gizlendiği belirtilmektedir. Ionas ve ark. (49) ise *M. ovipneumoniae* ve *M. arginini*'nin kuzuların burun mukozasına kolaylıkla kolonize olduklarını, 6-7 haftalık iken sütten kesilme dönemindeki kuzularda kolonizasyon görülmezken, 8 aylık kuzuların büyük bir çoğunluğundan mycoplasma izole edildiğini ve *M. ovipneumoniae*'nin *M. arginini*'den daha kolay yayıldığını bildirmektedirler.

M. ovipneumoniae sağlıklı hayvanların burun mukozası ve akciğerlerinden de izole edilmektedir (4, 11, 18, 56, 76, 77, 98). Leach ve ark. (66) Çoğunlukla sağlıklı görünen koyunlardan aldıkları 250 burun sıvabının 75'inden (% 30), 32 akciğerin

12'sinden (% 38) *M. ovipneumoniae* izole etmişlerdir. Brogden ve ark. (17) ise klinik olarak normal 558 koyundan aldıkları nazal sıvı örneklerinin 320'sinden *Mycoplasma* spp. izole etmişlerdir. Bunların 293'ünde *M. ovipneumoniae*, 12'sinde *M. arginini*, 1'inde *M. capricolum*, 2'sinde *Acholeplasma* sp., 3'ünde tanımlanamayan *Mycoplasma* sp. 9'unda ise *M. ovipneumoniae*; *Acholeplasma* sp. (3), *M. arginini* (3), *M. capricolum* (2) ve tanımlanamayan bir mycoplasma ile birlikte bulunmuştur. Araştırmacılar *M. ovipneumoniae*'nin sağlıklı koyunların üst solunum sisteminden bu kadar fazla oranda izole edilmesi nedeniyle kommensal olabileceğini ileri sürmektedirler. Buna karşılık İonaz ve ark. (49) Burun mukozasında mycoplasma kolonizasyonunun sürekli olmadığını, yaz sonunda ve sonbahar başlangıcında % 70'in üzerine çıkarken, hayvanlar rutin olarak test edildiğinde yalnızca % 5'inin burun boşluklarında *M. ovipneumoniae* izole edildiğini, bu nedenle *M. ovipneumoniae*'nin bir normal flora bakterisi olarak kabul edilemeyeceğini ancak, koyunların burun boşluklarında *M. ovipneumoniae* taşıyıcılığının kuzular için en önemli enfeksiyon kaynağı olduğunu bildirmektedirler.

M. ovipneumoniae'nin patojenitesi konusunda yapılan deneysel çalışmalarda oldukça farklı sonuçlar alınmaktadır. Sullivan ve ark. (100) pnömoni kuzulardan izole edilen *M. ovipneumoniae* kültürlerinin 1 günlük kuzulara i. v ve solunum yoluyla inokülasyonu ile proliferatif interstisyel pnömoni oluştuğunu bildirmektedirler. Ancak deneysel olarak oluşturulan pnömoni lezyonlarından verilen mycoplasmalar tekrar izole edilememiştir. Alley ve ark. (3) pnömoni akciğer süspansiyonu ve doğrudan *M. ovipneumoniae* suşunu konvansiyonel olarak yetiştirilen 5 aylık kuzulara inoküle ettikleri çalışmada, akciğer süspansiyonu verilen 20 kuzunun 17'sinde (% 85) doğal vakalardan ayırt edilemeyen kronik non-progressif pnömoni lezyonları oluşmasına rağmen, suş inoküle edilen 20 kuzunun 4'ünde (% 7) hafif pnömoni lezyonları oluşmuştur. Akciğer süspansiyonu inoküle edilen kuzularda daha fazla ve önemli derecede lezyon oluşması nedeniyle araştırmacılar akciğer süspansiyonunun başka bir etken ya da madde içerebileceğini belirtmektedirler.

Jones ve ark. (55) da 6 değişik *M. ovipneumoniae* suşunun karışımı ve doğal vakalardan elde edilen akciğer süspansiyonunu SPF ve konvansiyonel olarak yetiştirilen kuzulara inoküle ederek sonuçları karşılaştırdıkları çalışmada genel olarak bulgular heriki grupta da benzer olup *M. ovipneumoniae* % 80 oranında tekrar izole edilmiştir. Ancak proliferatif eksudatif pnömoni lezyonları akciğer süspansiyonu verilen hayvanlarda % 50, *M. ovipneumoniae* karışık kültürü verilen hayvanlarda % 21 oranında tesbit edilmiştir. Bu durumun çok az subkültüre rağmen, *M. ovipneumoniae*'nin bir miktar attenüasyonundan ileri gelebileceği bildirilmektedir. Araştırmacılar deneysel çalışmalarda elde edilen değişik sonuçların *M. ovipneumoniae* suşları arasındaki antijenik farklılıklardan ileri gelebileceğini düşünerek yaptıkları diğer bir çalışmalarında (54) SPF kuzulara *M. ovipneumoniae* karışık kültürü ile birlikte *P. haemolytica*'yı inoküle ederek hayvanların bir kısmında klinik belirtiler ve akciğerlerde proliferatif eksudatif pnömoni lezyonları oluşturduklarını ancak oluşan lezyonların 6 *M. ovipneumoniae* suşunun karışımı verilen hayvanlarda tek bir suşun verildiği gruptan daha şiddetli olduğu tesbit edilmiştir.

M. ovipneumoniae'nin tek başına proliferatif eksudatif pnömoni oluşturabileceği ancak *P. haemolytica*'nın hastalığın şiddetini artırdığı ileri sürülmektedir (55). Diğer bir görüş te *M. ovipneumoniae* ile enfeksiyonun *P. haemolytica*'nın letalitesini azaltması ve yayılmasını sınırlamasıdır. SPF kuzulara *P. haemolytica* tek başına verildiğinde, önce *M. ovipneumoniae* inoküle edilip daha sonra bakteri verilen hayvanlara göre önemli derecede daha virulent bulunmuştur (54). Araştırmacılar *M. ovipneumoniae* ve *P. haemolytica*'nın birlikte inoküle edildiği hayvanlardan *P. haemolytica*'nın daha az oranda izole edilmesinin de bu görüşü desteklediği bildirilmektedir (54). Jones ve ark. (57)'nin yaptıkları çalışmada konvansiyonel olarak yetiştirilen 170 kuzuya *M. ovipneumoniae* ve *P. haemolytica* kültürleri veya bunları içeren akciğer süspansiyonlarının inokülasyonu ile hayvanların % 77'sinde klinik olarak solunum sistemi hastalığı belirtileri oluşmuş ve akciğerlerden *M. ovipneumoniae* % 90, *P. haemolytica* ise % 45 oranında tekrar izole

edilmiştir . Araştırmacılar (57) *M. ovipneumoniae* ve *P. haemolytica*'nın koyunların atipik pnömonilerinin etkenleri olduklarını ileri sürmektedirler.

Buna karşılık Davies ve ark. (31). *M. ovipneumoniae*'nin primer ya da sekonder bir akciğer patojeni olmadığını bildirmektedirler. Çalışmalarında *M. ovipneumoniae*'nin tek başına SPF kuzulara inokülasyonu ile akciğerlerde makroskobik ve mikroskobik olarak hiç bir lezyon oluşturulamamıştır. Ayrıca *PI₃*'ü takiben *P. haemolytica* inoküle edilen 9 kuzunun 8'inde pnömoni oluşurken, *PI₃*'ü takiben *P. haemolytica* ve *M. ovipneumoniae* kombinasyonu inoküle edilen 5 kuzunun 1'inde pnömoni oluşmuştur. Foggie ve ark. (41) ise *M. ovipneumoniae* ile enfekte ettikleri 6 SPF kuzudan 3'ünde hafif makroskobik ve mikroskobik lezyonlar oluştuğunu, etkeni kuzulardan tekrar izole ettiklerini bildirmektedirler. Ayrıca enfekte 2 kuzu ile birarada bulunan 6 SPF kuzunun hepsinin üst solunum sisteminden *M. ovipneumoniae* izole edilmesine rağmen akciğerlerde herhangi bir lezyona rastlanmamış ve etken de izole edilememiştir.

Erdağ (34) Pnömonili kuzulardan izole edilen merkezli ve merkezli mycoplasma suşlarının deneysel olarak kuzulara inokülasyonu ile akciğerlerde patolojik bir değişime rastlanmadığını, bu nedenle mycoplasmaların primer ve sekonder enfeksiyonlara hazırlayıcı sebep teşkil ettiklerini bildirmektedir.

Mohan ve ark. (77) Zimbabve'de sağlıklı görünen keçi sürülerinden aldıkları 172 nazal sıvabın 112'sinden yalnızca *M. ovipneumoniae* izole etmişlerdir. İzole edilen suşlarla 6-8 haftalık kuzu ve oğlaklarda deneysel olarak klinik pnömoni oluşturulamamış, ancak bazı deneme hayvanlarının akciğer, trahea, lenf nodülleri ve timuslarından *M. ovipneumoniae* tekrar izole edilmiş ve bu hayvanların akciğerlerinde histopatolojik olarak intersitisyel pnömoni tesbit edilmesine rağmen diğer organlarda önemli bir değişiklik görülmemiştir. Otopside timusun 2 misli büyüdüğüne dikkati çeken araştırmacılar timusun enfeksiyonunun bir immünotolerans oluşturabileceğini, klinik pnömoni oluşmamasından ve akciğerlerde etkenin ko-

lonizasyonuna rağmen antikor tesbit edilememesinden bu durumun sorumlu olabileceğini ileri sürmektedirler.

Thirkell ve ark. (102) deneysel olarak *M. ovipneumoniae* ve *P. haemolytica* ile enfekte ettikleri kuzularda, ELISA ile *M. ovipneumoniae*' ye karşı iyi bir humoral immün cevap oluştuğunu tesbit etmişlerdir. Araştırmacılar yine ELISA ile *M. ovipneumoniae* ve 22 diğer mycoplasma türü arasındaki kros reaksiyonları araştırdıkları diğer bir çalışmalarında (103) ise *M. ovipneumoniae* ile *M. bovoculi*, *M. dispar*, *M. flocculare*, *M. hyopneumoniae* ve *M. hyorhinis* arasında kros reaksiyon tesbit etmişlerdir. Buna karşılık üreme inhibisyon (GI) ve metabolik inhibisyon (MI) testleri ile *M. ovipneumoniae* ile diğer mycoplasma türleri arasında kros reaksiyon tesbit edilememiştir (18, 56).

Mycoplasmaların identifikasyonu amacıyla yaygın olarak kullanılan ve son derece spesifik olan GI ve MI testleri ile *M. ovipneumoniae* suşları arasında intraspesifik heterojeniteye rastlanmasına rağmen aynı suşların poliakrilamid jel elektroforezis (PAGE) ile protein örneklerinin benzer olduğu tesbit edilmiştir (56). Serolojik olarak görülen intraspesifik farklılıkların membran antijenlerinden kaynaklandığı belirtilmektedir. Agar jel diffüzyon (AGD) testi suşlar arasındaki farklılıklardan ziyade benzerliklerin ortaya konması için uygundur. Membran antijenlerinin iştirak etmediği komplement fiksasyon testi ile intraspesifik farklılıklar görülmemektedir (50). PAGE ile *M. ovipneumoniae* suşları arasında çoğu bandlar ortak olmasına rağmen bakteriyel restriksiyon endonükleaz DNA analizi (BREND) ile incelenen suşların birbirlerinden farklı oldukları tesbit edilmiştir (75, 101). *M. ovipneumoniae* suşları arasındaki polipeptid ve antijenik farklılıkların hastalık oluşturma potansiyeli bakımında önemli olabileceği ileri sürülmektedir (101).

Koyun ve keçilerin solunum sistemin yaygın konakçılarından biri olan *M. arginini*, pnömonili akciğerlerinden normal akciğerlere göre daha fazla izole edilmesine rağmen pnömoni oluşumundaki rolü tam olarak belirlenememiştir (20, 29,

30, 40, 50, 52, 65, 67).

Al-Aubaidi ve ark. (2) pnömonili koyun ve keçilerden *M. arginini*' yi yaygın olarak izole etmişler ve hastalık oluşumunda rolü olabileceğini belirtmişlerdir. Jones (50) yaptığı deneysel çalışmada *M. arginini*' nin koyun ve kuzu akciğerlerinde herhangi bir histopatolojik değişime neden olmadığını belirtirken, Foggie ve ark. (40) pnömonili bir akciğerden izole edilen *M. arginini* suşunu SPF kuzulara inoküle ederek yaptıkları çalışmada akciğerlerde makroskopik olarak belirgin bir lezyon oluşmadığını, mikroskopik olarak ise çok hafif proliferatif değişiklikler görüldüğünü bildirmektedirler. Araştırmacılar *M. arginini*' nin vücut direncinin düştüğü durumlarda dokulara yayılabileceğini belirtmektedirler.

Koyun ve keçilerin mycoplasmalardan ileri gelen solunum sistemi enfeksiyonlarının klinik teşhisi; semptomlar, morbidite ve mortalite oranlarındaki çok geniş varyasyonlar, risk altındaki hayvanların yaşı, bakım şartları, genetik konstitüsyonu ve patojen etken ile hayvanın ilk defa karşılaşması, etkenin tipi, stres faktörleri ve araya giren diğer enfeksiyonlara bağlı olarak oldukça güçtür (67). Bu nedenle bazı hayvan ya da hayvan grupları dirençli, bazıları daha az duyarlı ve bazılarında da hiçbir klinik belirti görülmeyebilmektedir (38).

Mycoplasmaların dış ortam şartlarında dayanıklılıkları düşük olduğundan etkenlerin rezervuarı sürüdeki yaşlı hayvanlar olup, genç hayvanlar için önemli bir bulaştırma kaynağıdır. Mycoplasma pnömonilerinin kontrolü için konakçının direncini zayıflatan ve etkenlerin bulaşmasını kolaylaştıran faktörlerin azaltılması ya da ortadan kaldırılması gerekir. Bu amaçla barınaklarda hayvan yoğunluğunun azaltılması en basit yöntemdir. Solunum sistemine patojenlerin yerleşip gelişmesini kolaylaştıran amonyak gibi zehirli gaz ve tozu azaltmak için iyi bir havalandırma zorunludur. Sürüye yeni hayvan katılacağı durumlarda da çok dikkatli olunmalı, bir süre ayrı yerde tutulduktan sonra katılmalıdır (10, 20, 53, 67).

Hücre duvarının bulunmaması nedeniyle mycoplasmalar hücre duvarı sen-

tezini inhibe eden penicillin, cyclosin, polymyxin, bacitracin gibi antibiyotiklere dirençlidirler. Genellikle etkili antibiyotikler tetracyclin'ler macrolid'ler ve fluoroquinolan'lardır (9, 10, 56, 67, 81).

Küçük ruminantların pnömonilerine karşı uygulamada henüz bir aşı bulunmamaktadır. Bunun nedenleri özellikle patojen türlerin çeşitliliği ve suşlar arasında görülen antijenik varyasyonlardır. Öte yandan sığır ve keçilerin bulaşıcı plöropnömoni hastalıklarına karşı uygulanan aşılamalardan elde edilen sonuçlar da genel olarak mycoplasmaların aşılama ile kontrol ve eradikasyonunun güç olduğunu göstermektedir. Canlı attenüe aşılar duyarlı hayvanlar için patojenite riski taşıırken, inaktif aşılar da zayıf immünojendirler ve kısa süreli bağışıklık sağlarlar (53, 67). Fakat çeşitli ülkelerde ve Türkiye F 38 suşunun oluşturduğu CCPP'ye karşı aşı geliştirme çalışmaları devam etmekte ve canlı attenüe aşılarının güvenli bir koruma sağladığı bildirilmektedir (67, 69, 108). Ancak Hastalığın etkili bir şekilde kontrolü amacıyla kesim, karantina tedbirleri ve aşılama birlikte uygulanmaktadır (72).

Etkili kontrol tedbirlerinin geliştirilmesi için solunum sistemi hastalıklarının etiyoloji ve epidemiyolojilerinin aydınlatılmaları konusunda daha fazla çaba sarfedilmesi gerekmektedir.

Koyun keçi pnömonilerinde mycoplasmaların rolünü ortaya koymak amacıyla yapılan bu çalışmada, pnömonili koyun ve keçi akciğerlerinden mycoplasmaların izolasyon ve identifikasyonlarına çalışılmıştır.

MATERYAL METOT

Materyal

Akciğer Materyali : Konya Hayvan Hastalıkları Arştırma Enstitüsü'ne teşhis amacıyla getirilen 115 adet koyun ve keçi (70 kuzu, 34 koyun 6 oğlak, 5 keçi) akciğeri ile Konya Et ve Balık Kurumu (EBK) Mezbahası'nda kesilen 100 adet koyun (75 kuzu, 25 koyun) akciğer örnekleri izolasyon amacıyla kullanıldı.

Standart Mycoplasma Suşları : *M.ovipneumoniae* (Y98), *M.arginini* (G230) suşları Dr. J.G. Tully'den (Mycoplasma section, Frederick Canser Res. Dev. Center, Frederick, U.S.A); *M.ovipneumoniae* (956/2), *M.arginini* (10129), *M.mycoides subsp. capri* (PG2) suşları Dr. G.E Jones (Moredun Research Institute, Edinburgh, U.K) ve Avustralya'da izole edilen üç adet *M.ovipneumoniae* saha suşu Dr. L.E Carmichael'den (New York State College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, New York) temin edildi.

Antiserumlar : Bu amaçla Dr. J.G. Tully ve Dr. G.E. Jones'tan temin edilen ve *M.ovipneumoniae* (Y98) ve *M.arginini* (G230) suşlarına karşı hazırlanmış antiserumlar kullanıldı.

Antijen Hazırlanması : Standart suşların katı besiyerindeki kolonilerinden tek koloni alınarak 5-10 ml FM₄ sıvı besiyeri bulunan tüplere subkültür yapıldı. Bu kültürden de 500 - 1000 ml besiyerine ekim yapılarak 37 °C de 48-72 saat inkübasyona bırakıldı (aşırı pH değişimleri mycoplasmaların immünojenitelerini azalttığından kültürün logaritmik fazın sonunu aşmamasına dikkat edildi). Daha sonra bu kültür 10.000 g de 60 dak. santrifüj edilerek süpernatant atıldı ve dipteki tortu, % 5 sukrozlu PBS ile 3 defa yıkandı. Son yıkamadan sonra pelet orijinal hacminin 1/100 - 1/200'ü oranında distile su ile süspanse edilerek tavşanları immünize etmek amacıyla *antijen* olarak kullanıldı. Antijen kullanılıncaya kadar -20 °C de saklandı (52, 89).

Tavşanlarda Antiserum Elde Edilmesi : Incomplete Freund adjuvanı (Difco) ile emülsifiye edilen antijenden ilk doz olarak 0,5'er ml kas içi 4 ayrı bölgeye ve 0,1'er ml 3 ayrı bölgeye deri altı enjekte edildi (toplam doz 2,8 ml). Yirmibirinci gün emülsifiye antijenden 1'er ml arka bacaklara kas içi olarak enjekte edildi. Kırkikinci gün 0,5 ml adjuvantsız antijen damar içi enjekte edildi. Son enjeksiyondan 9-10 gün sonra tavşanlardan kan alınarak serumları çıkarıldı (52).

Antiserum Disklerinin Hazırlanması : Elde edilen antiserumlar 0.22 µm'lik milipor filtrelerle sterilize edildikten sonra 6-7 mm çapındaki steril filtre kağıdından hazırlanan disklere emdirildi, kuruduktan sonra diskler kullanılıncaya kadar +4 °C de saklandı (19).

Mycoplasma Besiyerleri : Çalışmada aşağıda formülleri ve hazırlanışları verilen besiyerleri kullanıldı.

1 - Modifiye Friis Besiyeri

Hank's balanced salt solution (10x).....	30 ml
Bacto - Brain heart infusion (Difco)	5 g
Mycoplasma - broth (Difco)	7.5 g
Lactalbumin hydrolysate (Gibco)	1.25 g
Yeast extract (Difco)	0.5 g
Phenol red (%0.1).....	13.7ml
Distile su	720 ml

Karıştırılıp pH 7.8'e ayarlanıp 121 °C de 20 dk. otoklavda sterilize edildikten sonra aşağıdaki steril solusyonlar aseptik şartlarda ilave edildi.

Taze yeast extract (%25).....	36.5 ml
Glikoz (%50)	2.5 ml
Thallium acetate (%2)	5.5 ml
At serumu	100 ml
Domuz serumu (inaktif)	100 ml
Ampicillin	0.05mg/ml

Katı besiyeri, 6 g/lt. Noble agar (Difco) ilavesiyle hazırlandı (43).

Taze Yeast Extract'in Hazırlanışı : Ekmek mayası veya bira mayasının 250 gr.'ı 1 lt. distile suda karıştırılarak benmaride kaynayınca kadar ısıtıldı. Buzdolabında 24-48 saat çökmeye bırakıldı. Üst sıvı alınıp, Seizt filtresinden geçirilerek sterilize edildi. 0,1 M NaOH ile pH 8'e ayarlanarak steril şişelere dağıtıldı ve kullanılıncaya kadar -20°C de saklandı (87).

2. FM₄ besiyeri

NaCl.....	5 g
KCl.....	0.4 g
Mg SO ₄ 7H ₂ O.....	0.2 g
Na ₂ PO ₄	1.6 g
KH ₂ PO ₄	0.1 g
Glikoz.....	10 g
Pepton.....	10 g
Yeastautolisate.....	5 g
L-cystein hydrochloride.....	0.1 g
Distile Su.....	1000 ml

Besiyerini oluşturan maddeler distile suda eritilip Seizt filtresinden süzülerek sterilize edildikten sonra;

Thallium acetate.....	0.5 mg/ml
Penicillin G.....	500/1000 UI/ml
At serumu.....	%15

İlave edilerek 3 N NaOH ile pH 7.6 - 7.7'ye ayarlanıp tüplere taksim edildi (45). Katı besiyeri ise bu sıvı besiyerine %1Noble agar (Difco) katılarak hazırlandı (4).

3. Modifiye Hayflick Besiyeri

Bacto PPLO broth (Difco).....	2.1 g
Distile su.....	70 ml

Süspansiyon, homojen hale gelinceye kadar ısıtıldıktan sonra otoklavda 121 °C de 20 dak. sterilize edildi. Daha sonra besiyerine aşağıdaki steril solusyonlar aseptik şartlarda ilave edilerek pH 7,6 - 7.8'e ayarlandı.

At serumu	20 ml
Taze yeast extract	8 ml
Deoxyribonucleic acid (Sigma).....	% 0.002
Penicillin G	1000 UI/ml
Thallium acetate	1/2000
Glikoz	% 0,5-1
Phenol red	1/5000

Katı besiyeri ise bu besiyerindeki Bacto PPLO broth yerine Bacto PPLO agar (Difco) 3.5 g katılmasıyla hazırlandı (pH 7.2-7.6) (112).

Diğer Besiyerleri : Diğer bakterilerin izolasyonu amacıyla, % 7 oranında defibrine koyun kanı katılmış *Blood agar base (Oxoid)* ve *Mac Conkey agar (Oxoid)* kullanıldı.

Dienes Boyası : Mycoplasma kolonilerinin boyanması amacıyla *Dienes boyası* kullanıldı (85).

Dienes Stok Solusyonu

Methylene blue	2.5 g
Azure II.....	1.25 g
Maltose.....	10 g
Na ₂ CO ₃	0.25 g
Benzolic asit	0.20 g
Merthiolate	0.01 g
Deionize su.....	100 ml

Kullanma solusyonu stok solusyonun suda % 3'lük dilüsyonu ile hazırlandı ve 0,22 µl'lik milipor filtreden geçirilerek sterilize edildi.

Antibiyotik Duyarlılık Diskleri

İzole edilen Mycoplasma suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarının tesbitinde tylosin (30 µg) (Mast Laboratories), spiramycin (100 µg) (Bio Merieux), enrofloxacin (5 µg) (Bayer), lincospectin (50 µg lincomycin, 100 µg spectinomycin) (Eczacıbaşı) ve erythromycin (15 µg), chlortetracycline (30 µg), oxyteracycline (30 µg), streptomycin (10 µg), gentamycin (10 µg) (Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü) diskleri kullanıldı.

Metot

Örneklerden Mycoplasma İzolasyonu : Akciğerlerin sağlam ve lezyonlu doku sınırında steril makas ve pensle alınan doku parçalarından kanlı agar ve mycoplasma besiyerlerine ekildi.

Mycoplasma izolasyonu amacıyla yaklaşık 0,5 g kadar doku parçası sıvı besiyerine konularak iyice çalkalandı ve 37 °C de 1 saat inkübe edildikten sonra buradan 0,1 ml miktarında alınarak Modifiye Hayflick, Modifiye Friis ve FM₄ sıvı ve katı besiyerlerine ekimler yapıldı. Sıvı besiyerlerinin 10⁻⁵'e kadar dilüsyonu yapıp, pleytler ise nemli ve mumlu bir jara konularak besiyerleri 37 °C de inkübasyona bırakıldı. Kültürler renk (pH) değişimi ve bulanıklık gibi üreme işaretleri bakımından her gün kontrol edilerek 2 hafta bekletildi. Sıvı besiyerinde renk değişimi (glukoz kullanımı için sarı, arjinin kullanımı için pembe) görülen en yüksek dilüsyondan katı besiyerine ekim yapılarak renk değişiminin üremeden ileri gelip gelmediği ve koloni gelişimi mikroskop altında (40 x büyütmede ve düşük aydınlatmada) incelendi. Üreme görülen katı besiyerinden öze ile kesilen agar bloku, sıvı besiyerine atılarak ve katı besiyeri yüzeyine ters çevrilerek gezdirilmesi suretiyle subkültürleri yapıldı. Koloniler *Dienes boyası* ile boyanarak incelendi. Bakteri olmasından şüphelenilen kültürlerden kanlı agara ve inhibitörsüz katı mycoplasma besiyerine üç kez pasaj yapılarak bakteri formuna dönüşüp dönüşmedikleri gözlenerek, "*L formları*"nın ayrılmasına çalışıldı. Renk değişimi görülmeyen sıvı besiyerlerinden 5-7 gün sonra bir kör pasaj yapıldıktan sonra üreme görülmeyenler mycoplasma yönünden negatif olarak kabul edildi (52, 105).

İzole Edilen Suşların İdentifikasyonları : Bu amaçla, koloni morfolojisi, dijitonine duyarlılık testi, glukoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, fosfataz ve hemoliz testlerinden yararlanıldı. Daha sonra bu testlerin sonucuna

göre uygun antiserumlar ile üreme inhibisyon testi uygulanarak izole edilen suşların identifikasyonları yapıldı.

Koloni Morfolojisi : Mycoplasma kolonilerinin incelenmesi için genellikle mikroskobun 40 x büyütmesi kullanıldı ve Dienes boyama yöntemi uygulandı. Koloni görünümüne göre suşlar merkezli ve merkezsiz olarak ayrıldı (85).

Dienes Boyama Yöntemi : Kolonileri içeren agardan küçük kare bir parça (yaklaşık 1 cm²) kesilerek koloniler üste gelecek şekilde lam üzerine yerleştirildi. Agar parçasının etrafı parafin ile kaplandı (agar yüzeyine taşmaktan sakınarak agar blokunun yüksekliğinden hafifçe yüksek olmasına dikkat edildi). Agar yüzeyi 1-4 damla Dienes kullanma solusyonu ile kaplandı. Boyanmış agar blokunun üzerine bir lamel yerleştirildi (hava kabarcığı oluşumundan sakınılarak) parafin ile lamelin teması sağlandı. Lamelin agar yüzeyine mümkün olduğu kadar yakın, fakat yüzeye değmemesine çalışılarak 40x, 100x büyütmelemlerde normal ışık mikroskobu ile incelendi (85).

Dijitonin'e Duyarlılık Testi : Bu amaçla, % 95 etanol içerisinde %1,5'luk *digitonin* solusyonu hazırlandı 75 mg *digitonin* +5 ml % 95'lik etanol kapaklı bir şişeye konulup kaynayan suda hafifçe çalkalanarak *digitonin*'in erimesi sağlandı. Yaklaşık 6 mm çapındaki, filtre kağıdından hazırlanan diskler bir petri kutusu içerisinde konularak herbir diske 0,025 ml *digitonin* solusyonu emdirildi. Diskler 37 °C de kurutulduktan sonra kullanılıncaya kadar +4 °C de saklandı. Test kültürünün (48 saatlik) 1/100'lük dilüsyonundan 0,2 ml katı besiyerinin yüzeyine yayıldı. Yüzey kuruyuncaya kadar bekletildikten sonra steril pens ile disk pleytin ortasına yerleştirilerek hafifçe bastırıldı. Pleytler 37 °Cde nemli, mumlu jarda üreme görülünceye kadar inkübe edildikten sonra disklerin etrafında oluşan zonun genişliği ölçüldü, 4 mm ve daha geniş zonlar *pozitif* olarak değerlendirildi (106).

Glikoz Fermentasyonu : İçerisinde % 1 glikoz ve % 0,002 *phenol red* bulunan mycoplasma sıvı besiyerine (pH 7.8) test kültüründen ekim yapılarak, ekim yapılmayan bir kontrol tüpü ile birlikte 37 °C de inkübe edildi. Besiyeri renginin pH 7'nin altına düşmesi nedeniyle kırmızıdan sarıya dönüşmesi *pozitif* olarak değerlendirildi (86).

Arjinin Hidrolizi : İçerisinde % 0,2 -1 *arginine* ve % 0.002 *phenol red* bulunan mycoplasma sıvı besiyerine (pH 7.4) test kültüründen ekim yapılarak ekim yapılmayan bir kontrol tüpü ile birlikte 37 °C de inkübe edildi. Besiyeri renginin pH 7'nin üzerine çıkması nedeniyle koyu pembeye dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi (12).

Tetrazolium Redüksiyonu : Steril 2, 3, 5 - *triphenyltetrazolium chlorid*'in % 0,2'lik solusyonundan % 0,02 oranında katılan mycoplasma sıvı besiyerine test kültüründen ekilerek 37 °C de inkübe edildi. Besiyeri renginin pembe yada kırmızıya dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi (21).

Film ve Spot Oluşumu : Aseptik olarak ayrılan yumurta sarıları eşit hacimde steril distile su ile homojenize edilerek katı besiyerine % 10 oranında katıldı. Test kültüründen ekim yapılan bu besiyerinin yüzeyinde kolestrol ve fosfolipidlerden oluşan ince tabaka (film) ve kolonilerin etrafında küçük siyah benekler halinde görülen spot oluşumu gözlemlendi. (44).

Fosfataz Testi : Steril *phenolftalein diphosphat*'in % 1'lik de solusyonundan % 0,1 oranında katılan katı besiyerine ekim yapılarak, pleytler 37 °C 7 gün inkübe edildikten sonra üzerine 5 N NaOH döküldü. Pembe kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (16).

Hemoliz Testi : İçerisine %10 koyun kanı katılan katı besiyerine ekim yapılarak üreme görülünceye kadar inkübe edildikten sonra sonuçlar değerlendirildi (56).

Üreme İnhibisyon Testi : Test kültürünün on katlı dilüsyonları yapılarak 10^{-3} dilüsyonundan 3.5-4 mm kalınlığında besiyeri bulunan 5 cm çapındaki pleyte 0.1 ml damlatıldı. İnokulum ısıtılarak L şekli verilen Pastör pipetle agar yüzeyine yayıldı ve 37 °C de 30 dak. tutularak kültürün agar içerisine yayılması sağlandı. Daha sonra hiperimmün serum emdirilmiş disk yerleştirilerek 37 °C de üreme görülünceye kadar inkübasyona bırakıldı. Diskin etrafındaki 2 mm ve daha geniş zon oluşması pozitif olarak değerlendirildi (19).

Antibiyotiklere Duyarlılık Testi : Dilüe edilmemiş 24 saatlik kültürler pleyte

yayılarak fazla sıvı alındı ve pleytler 37 °C de 15 dak. tutularak kurutulduktan sonra diskler yerleştirilerek, 3-6 gün inkübasyondan sonra inhibisyon zonları ölçüldü (56).

Diğer Bakterilerin İdentifikasyonu : Lezyonlu akciğer örneklerinden % 7 koyun kanlı Blood Agar Base (Oxoid) ve Mac Conkey Agar (Oxoid)'a ekimler yapılarak 37 °C de 24-72 saat inkube edildiler. Üreyen bakteri kolonileri Gram metodu ile boyanarak incelendikten sonra biyokimyasal testleri yapılarak identifiye edildi (5, 63).

Histopatolojik Muayeneler : Bazı akciğer örneklerinden alınan parçalar % 10 formol içerisinde Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Patoloji Labaratuvarına gönderilerek histopatolojik incelemeleri yapıldı (16).

BULGULAR

Mikrobiyolojik Bulgular : Çalışmada Konya Hayvan Hastalıkları Enstitüsü Teşhis Laboratuvarı'na, değişik işletmelerden getirilen koyun ve keçilere alt 115 adet pnömonilli akciğerin 50'sinden (% 43.4) ve Konya E.B.K. mezbahasından alınan 100 adet pnömonilli akciğerin 36'sından (% 36) olmak üzere toplam 215 materyalin 86'sından (% 40) Mycoplasma etkenleri izole edildi. Ayrıca yapılan bakteriyolojik ekimlerde 215 pnömonilli akciğerin 66'sından (% 31.1) başta *P. haemolytica* olmak üzere diğer bakteriyel etkenler izole edildi. (Tablo-1).

Tablo-1 : Çalışmada incelenen pnömonilli akciğer örneklerinin kaynaklarına göre dağılımı ve etken izolasyon oranları

Kaynak	Kuzu	Koyun	Oğlak	Keçi	Mycoplasma izole edilen Örnek sayısı %		Bakteri izole edilen Örnek sayısı %		İzolasyon yapılamayan Örnek sayısı %	
Enstitü n:115	70	34	6	5	50	43.4	39	33.9	26	22.6
E.B.K. n:100	75	25	-	-	36	36	27	27	37	37
TOPLAM	145	59	6	5	86	40	66	30.6	63	29.3

Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Teşhis Laboratuvarına getirilen 115 pnömonilli akciğerden izole edilen 53 Mycoplasma suşunun 9'u (%16.9) *M.ovipneumoniae* (7'si kuzu, 1'i koyun, 1'i keçi akciğerinden), 42'si (%79.2) *M.arginini* (31'i kuzu, 7'si koyun, 3'ü oğlak, 1'i keçi akciğerinden), 1'i (%1.8) *M.mycoides subsp. capri* (keçi akciğerinden) ve 1'i (%1.8) de *M.agalactiae* (koyun akciğerinden) olarak tanımlanmıştır.

E.B.K. Mezbahasından alınan 100 pnömonilli akciğerden izole edilen 38 Mycoplasma suşunun ise 14'ü (% 36.8) *M.ovipneumoniae* (tümü kuzu akciğerlerinden) ve 24'ü (%63,1) de *M. arginini* (21'i kuzu 3'ü koyun akciğerinden) olarak tanımlanmıştır (Tablo-2).

Tablo-2 : İzole edilen mycoplasma suşlarının kaynaklarına göre dağılımı

Kaynak	M.ovipneumoniae	M.arginini	M.mycoides subsp. capri	M.agalactiae
Enstitü	9	42	1	1
E.B.K.	14	24	-	-
TOPLAM	23	66	1	1

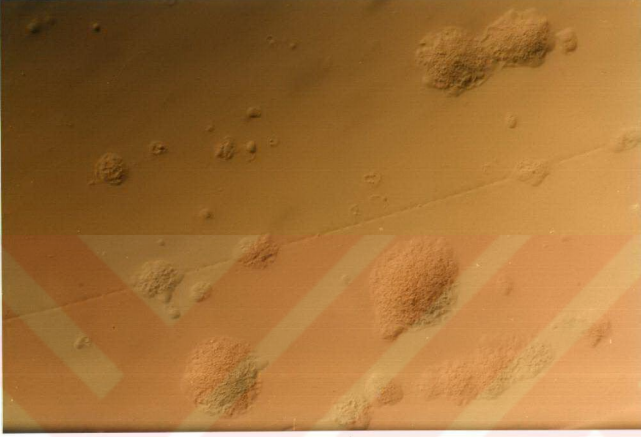
Bakteriyolojik ekimlerde ise 215 materyalin 66'sından (% 30.6) 148 bakteri suşu izole edildi. Bunlardan, 64'ü (% 43.2) *P. haemolytica*, 28'i (% 18.9) *Staphylococcus spp.*, 23'ü (% 15.5) *A. pyogenes*, 21'i (% 14.1) *E.coli* ve 12'si (% 8.1) *Streptococcus spp.* olarak identifiye edildi.

İzole edilen 91 Mycoplasma suşunun 32'si (% 35.1) tek başına geri kalanı diğer etkenlerle birlikte izole edildi (Tablo-3).

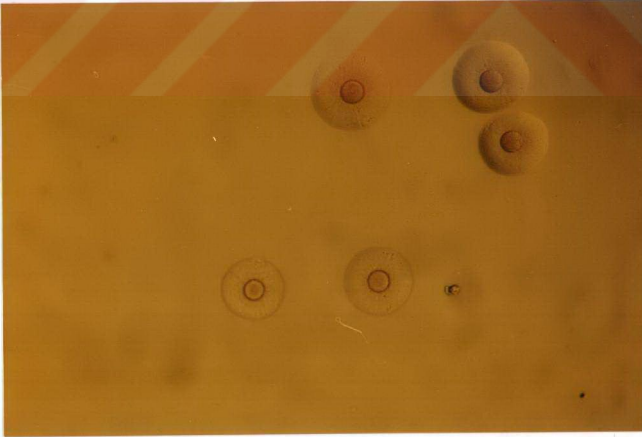
Tablo 3 - *Mycoplasma* izolasyonu yapılan örneklerdeki etkenlerin dağılımı

Mikroorganizmalar	İzole edildiği Örnek sayısı
<i>M. ovipneumoniae</i>	7
<i>M. arginini</i>	23
<i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i>	1
<i>M. agalactiae</i>	1
<i>M. ovipneumoniae</i> + <i>M. arginini</i>	2
<i>M. ovipneumoniae</i> + <i>P. haemolytica</i>	9
<i>M. ovipneumoniae</i> + <i>Strep. spp</i>	1
<i>M. ovipneumoniae</i> + <i>M. arginini</i> + <i>P. haemolytica</i>	3
<i>M. ovipneumoniae</i> + <i>P. haemolytica</i> + <i>E. coli</i>	1
<i>M. arginini</i> + <i>P. haemolytica</i>	15
<i>M. arginini</i> + <i>Staph. spp.</i>	2
<i>M. arginini</i> + <i>E. coli</i>	1
<i>M. arginini</i> + <i>P. haemolytica</i> + <i>Staph. spp.</i>	5
<i>M. arginini</i> + <i>P. haemolytica</i> + <i>A. pyogenes</i>	2
<i>M. arginini</i> + <i>A. pyogenes</i> + <i>Staph. spp.</i>	1
<i>M. arginini</i> + <i>Staph. spp.</i> + <i>E. coli</i>	2
<i>M. arginini</i> + <i>P. haemolytica</i> + <i>E. coli</i>	3
<i>M. arginini</i> + <i>P. haemolytica</i> + <i>Strep. spp.</i>	2
<i>M. arginini</i> + <i>Strep. spp.</i> + <i>E. coli</i>	1
<i>M. arginini</i> + <i>P. haemolytica</i> + <i>Staph. spp.</i> + <i>E. coli</i>	1
<i>M. arginini</i> + <i>P. haemolytica</i> + <i>Strep. spp.</i> + <i>A. pyogenes</i>	1
<i>M. arginini</i> + <i>A. pyogenes</i> + <i>Staph. spp.</i> + <i>E. coli</i>	1
<i>M. arginini</i> + <i>A. pyogenes</i> + <i>Staph. spp.</i> + <i>Strep. spp.</i>	1

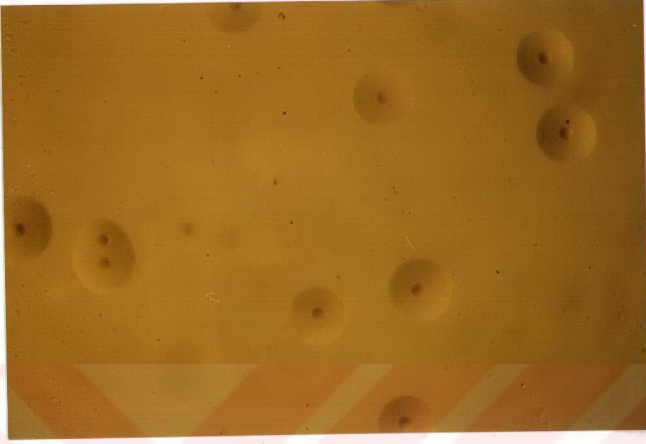
Mycoplasma Suşların Koloni Morfolojileri : *M.ovipneumoniae* suşlarının kolonileri merkezsiz granüler ve koloniler genellikle birbirleriyle birleşmiş görünümde (Resim 1) iken, *M.arginini*, *M.mycoides subsp. capri* ve *M.agalactiae* suşları tipik merkezli koloniler oluşturdular (Resim 2, 3, 4).



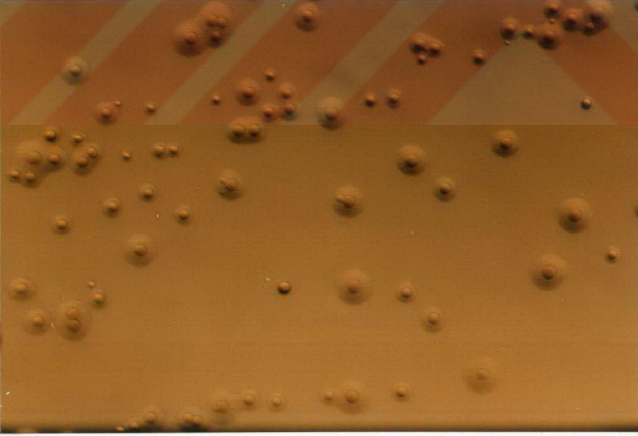
Resim - 1 : *M.ovipneumoniae* kolonilerinin mikroskopik görüntüsü (X60)



Resim - 2 : *M.arginini* kolonilerinin mikroskopik görüntüsü (X60)



Resim - 3 : *M. mycoides subsp. capri* kolonilerinin mikroskopik görüntüsü (X60)



Resim - 4 : *M. agalactiae* kolonilerinin mikroskopik görüntüsü (X45)

Mycoplasmaların Biyokimyasal Özellikleri : Çalışmadan izole edilen bütün

mycoplasma suşları dijitonine duyarlılık testinde pozitif bulundu. *M.ovipneumoniae* suşlarında glikoz fermentasyonu, tetrazolium redüksiyonu pozitif, arjinin hidrolizli, film ve spot oluşumu ile fosfataz testleri negatif, *M.arginini* suşlarında ise arjinin hidrolizli pozitif, diğer testler negatif bulundu. İzole edilen 1 *M.mycoides subsp. capri* suşu glikoz fermentasyonu ve tetrazolium reaksiyonu pozitif, diğer testlerde negatif, 1 *M.agalactiae* suşu ise glikoz fermentasyonu ve arginin hidrolizli negatif, diğer testlerde pozitif idi. *M.ovipneumoniae*, *M.agalactiae* ve *M.mycoides subsp. capri* suşları koyun kanlı agarda genellikle bir alfa hemoliz oluşturmalarına rağmen *M.arginini* suşları hemoliz oluşturmadi (Tablo-4).

Tablo - 4 : İzole edilen mycoplasma suşlarının biyokimyasal özellikleri

Biyokimyasal Testler	<i>M.ovipneumoniae</i>	<i>M.arginini</i>	<i>M.mycoides subsp.capri</i>	<i>M.agalactiae</i>
Koloni Morfolojisi	Merkezsiz	Merkezli	Merkezli	Merkezli
Dijitonine Duyarlılık	+	+	+	+
Glikoz Fermentasyonu	+	-	+	-
Arjinin Hidrolizi	-	+	-	-
Tetrazolium Redüksiyonu	+	-	+	+
Film ve spot	-	-	-	+
Fosfataz	-	-	-	+
Hemoliz	+	-	+	+

Üreme İnhibisyon Testi Sonuçları : İzole edilen *M.ovipneumoniae* *M.arginini*

ve *M.mycoides subsp. capri* suşları için uygulanan üreme inhibisyon testinde tüm suşların üremeleri *M.ovipneumoniae* (Y98), *M.arginini* (G230) ve *M.mycoides subsp. capri* (PG₃) standart suşlarına karşı spesifik antiserumlar tarafından inhibe edildi. Oluşan inhibisyon zonlarının çapı 2-5 mm. arasında değişmekle beraber özellikle

M.ovipneumoniae suşlarında her zaman kesin bir inhibisyon zonu görülmedi. Diskin etrafındaki koloni sayısında azalma ile birlikte bu bölgedeki kolonilerin şekillerinde değiştiği ve aynı zamanda disk etrafında metabolik inhibisyon etkisi görüldü (ağarda görülen renk değişimin disk etrafında bulunmamasıyla). Çalışmada izole edilen 1 suş yapılan üreme inhibisyon testinde her üç antiserum ile negatif sonuç verdi ve biyokimyasal özelliklerine göre *M. agalactiae* olarak tanımlandı.

Antibiyotiklere Duyarlılık Testi : On *M.ovipneumoniae* ve 20 *M.arginini* suşu ile yapılan antibiyotik duyarlılık testinde tüm *M.ovipneumoniae* suşları erythromycin ve streptomycin'e dirençli, oxytetracycline, chlortetracycline, gentamycin, tylosin, spiramycin, enrofloxacin ve lincospectin'e duyarlı bulundu. *M.arginini* suşlarının ise tümü streptomycine dirençli bulunurken, tümü tylosin, spiramycin, enrofloxacin ve lincospectin'e duyarlı, 15 suş erythromycin'e, 1 suş oxytetracycline'e, 9 suş chlortetracycline'e ve 6 suş da gentamycin'e dirençli bulundu (Tablo 5).

Tablo 5 : *M.ovipneumoniae* ve *M.arginini* suşlarının bazı antibiyotiklere duyarlılıkları

Antibiyotikler	M.ovipneumoniae				M.arginini			
	Duyarlı		Dirençli		Duyarlı		Dirençli	
	suş sayısı	%	suş sayısı	%	suş sayısı	%	suş sayısı	%
Erythromycin (15µg)	0	0	10	100	5	25	15	75
Oxytetracycline(30µg)	10	100	0	0	19	95	1	5
Chlortetracycline(30µg)	10	100	0	0	11	55	9	45
Streptomycin(10µg)	0	0	10	100	0	0	20	100
Gentamycin(10µg)	10	100	0	0	14	70	6	30
Tylosin(30µg)	10	100	0	0	20	100	0	0
Spiramycin(100µg)	10	100	0	0	20	100	0	0
Enrofloxacin(5µg)	10	100	0	0	20	100	0	0
Lincospectin(50- 100µg)	10	100	0	0	20	100	0	0

Histopatolojik Bulgular : İncelenen 52 akciğerin 15'inde (%28.8) atipik pnömoni bulguları (intersitisyel pnömoni ve lenfoid hiperplazi), 8'inde (%15.3) kataral purulent bronkopnömoni 11'inde (%21.1) pulmoner adenomatozis, 6'sında (%11.5) fibrinli pnömoni, 2'sinde (%3.8) verminöz pnömoni ve 10'unda (%19.2) de viral pnömoni bulguları (PI₃, maedi-visna, respiratory syncytial virus ve diğ.) tesbit edilmiştir. Histopatolojik bulgulara göre izole edilen etkenler Tablo - 6'da gösterilmektedir.

Tablo - 6 : 52 akciğerin histopatolojik bulguları ve izole edilen mikroorganizmaların dağılımı

İzole edilen mikroorganizma	Atipik pnömoni (intersitiyel pnömoni + lenfoid hiperplazi) n : 15	Kataral purulent bronkopnömoni n : 8	Pulmoner adenomatozis n : 11	Viral Pnömoni bulg. (PI ₃ , Maedi, RSV) n : 10	Fibrinli pnömoni n : 6	Verminöz pnömoni n : 2
M.ovipneumoniae	7/15	--	--	--	1/6	--
M.arginini	10/15	2/8	5/11	3/10	2/6	--
P.haemolytica	7/15	3/8	3/11	2/10	4/6	2/2
Diğer Bakteriler*	6/15	3/8	4/11	1/10	--	4/2
İzolasyon yapılamayan	1/15	3/8	5/11	7/10	--	--

n : Materyal sayısı

* Staphylococcus spp., Streptococcus spp., A. pyogenes, E. coli

TARTIŞMA VE SONUÇ

Koyun-keçi pnömonilerinde mycoplasmaların rolünü araştırmak amacıyla yapılan bu çalışmada mycoplasmaların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesine çalışıldı. Bazı akciğer örnekleri histopatolojik olarak incelendi.

Pnömoni, koyun ve keçilerin en yaygın enfeksiyöz hastalıklarından biri olup pnömoni hayvanların solunum sistemlerinden bir çok mikroorganizma izole edilebilmektedir(13,60). Ancak çoğunun sağlıklı hayvanların solunum sistemlerinden de izole edilmesi nedeniyle etiyolojik önemi şüphelidir (4,11,17,30,74). Bir mikroorganizmanın etiyolojik önemini tesbit etmek için gerekli olan patolojik incelemelere göre de hastalığın kesin bir tanımı yapılamamıştır(30). Genel olarak koyun pnömonileri akut eksudatif (akut pnömonik pastörellozis) ve kronik proliferatif (atipik pnömoni) lezyonlar olarak sınıflandırılmıştır (94). Fakat bu iki tip pnömoni, etiyolojisi belirli hastalıklardan ziyade bir seri lezyon tiplerinin en uç noktalarını temsil ederler. Mezbahadan alınan pnömoni akciğer örneklerinde değişik lezyonlarla karşılaşılmaktadır(30).

Koyun yetiştirilen ülkelerin pek çoğunda rastlanan atipik pnömonilerin ülkemizde de Orta Anadolu ile Doğu ve Güneydoğu Anadolu'nun belirli yörelerinde önemli bir problem olduğu bildirilmektedir(10). Konya Bölgesinde kuzu pnömonilerinin makroskobik ve mikroskobik olarak incelendiği bir çalışmada(61) pnömoni lezyonları sırasıyla; atipik pnömoni (%64.9), kataral-purulent pnömoni(%13.3), apseli-nekrotik bronkopnömoni (%14.8), subplöral lokalize lenf düğümleri görülen pnömoni(%3.3), verminöz pnömoni(%2.6) ve pulmoner adenomatosis(%0.5) olarak bildirilmiş, ancak bazı akciğerlerden *P.haemolytica* ve diğer bakteriler izole edilirken mycoplasma

izolasyonuna çalışılmamıştır.

Sunulan bu çalışmada ise, 52 akciğer örneği histopatolojik olarak incelendi ve değişik pnömoni lezyonlarına rastlandı. Bunların 15'inde(%28.8) atipik pnömoni, 11'inde(%21.1) pulmoner adenomatosis, 10'unda(%19.2) viral pnömoni bulguları (Pl₃ . maedi-visna, respiratory syncytial virus ve diğ.), 8'inde (%15.3) kataral-purulent bronkopnömoni, 6'sında(%11.5) fibrinli pnömoni, 2'sinde(%3.8) verminöz pnömoni bulguları tesbit edildi. Histopatolojik olarak incelenen akciğer örneklerinden izole edilen 11 *M. ovipneumoniae* suşunun 10'u atipik pnömoni lezyonlarından, 1'i ise fibrinli pnömoni lezyonundan izole edildi. Atipik pnömoni lezyonlarından aynı zamanda başta *M. arginini* ve *P. haemolytica* olmak üzere diğer bakteriler izole edildi. Bu sonuçlar atipik pnömonilerin etiyolojisinde *M. ovipneumoniae* ve *P. haemolytica* suşlarının önemli rol oynadığını, atipik pnömoni lezyonlarından izole edilebilen *M. arginini*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* ve koliform'lar gibi diğer etkenlerin hastalığın etiyolojisinde önemli bir rolleri olmamakla birlikte lezyonların şiddetini etkilediğini bildiren aşırıcıların (3,11,18,53,71,78,80,99,104) bulgularıyla uyum göstermektedir.

Koyun ve keçilerin mycoplasmal enfeksiyonlarının teşhisinde serolojik yöntemler yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bu nedenle kesin teşhis için sorumlu mikroorganizmanın izolasyon ve identifikasyonu zorunludur. Mycoplasmaların izolasyonu diğer bakterilerden farklı ve güç olup üretilmeleri için kompleks ve zenginleştirilmiş besiyerlerine gerek vardır. Mycoplasma türlerini diğer bakteri türlerinden ayırt eden en önemli üreme gereksinimi kolesteroldür. Tüm besiyerleri temel olarak %10-20 serum ile zenginleştirilmiş bir protein infüzyon besiyerine maya faktörleri ve bakteriyel inhibitörlerin katılmasıyla hazırlanır(6,20,21,35,105). Ancak her mycoplasma türünün maksimal olarak üreyebilmesi için tek bir besiyerinin uygun olmayacağı genel

besiyerlerinde bazı modifikasyonların yapılması gerektiği bildirilmektedir (15,21,45). Bu mikroorganizmaların besin gereksinimleri ve konakçıları arasındaki kompleks ilişki henüz tamamiyle anlaşılamadığından mycoplasmaların izolasyonu amacıyla değişik besiyerleri önerilmiştir (43,45,52,112). Değişik besiyerleri arasındaki görünüşteki küçük farklılıklar özellikle güç üreyen mycoplasmaların ilk izolasyonu için gerekli olabilir. Bu nedenle izolasyonda uygun besiyerinin seçimi önemlidir. Bu çalışmada kullanılan besiyerleri koyun-keçi pnömonilerinden en fazla izole edilen türler dikkate alınarak seçildi. Bu amaçla *Modifiye Hayflick* ile güç üreyen mycoplasmalar, özellikle *M. ovipneumoniae*'nin izolasyonu için araştırmacıların en fazla kullandıklarını belirttikleri *FM4* ve *Modifiye Friis* besiyerleri kullanıldı.

Mycoplasmalar yetersiz bir enerji üretme yeteneğine sahip olduklarından makromoleküllerin sentezi için uygun bir enerji kaynağına ihtiyaç duyarlar. Bu amaçla besiyerlerine *M. ovipneumoniae* gibi fermentatif türler için glükoz, *M. arginini* ve *M. capricolum* gibi arjinini hidrolize eden türler için arjinin katılmakta, *M. agalactiae* gibi nonfermentatif türler için enerji kaynağı bilinmemektedir (21,52,83,84). Bu çalışmada hem *M. arginini*'nin üremesini spesifik olarak artırması hem de besiyerine katılan indikatör vasıtasıyla üremeyi göstermesi nedeniyle *Modifiye Hayflick* besiyerine arjinin ilave edilmesinin yararlı olduğu görüldü.

Mycoplasmaların koloni morfolojisi türlere göre değiştiği gibi kullanılan besiyeri, kültürün yaşı ve pasaj durumuna göre de değişmektedir(85). Bu çalışmada izole edilen *M. ovipneumoniae* suşlarının merkezsisiz, granüler görünümlü ya da vakuollü, düzgün olmayan koloniler oluşturduğu, *M. arginini* kolonilerinin düzgün, orta büyüklükte ve merkezleri belirgin, *M. mycoides subsp. capri* suşunun kolonilerinin geniş, merkezlerinin küçük, *M. agalactiae* olarak belirlenen bir suşun kolonilerinin ise nisbeten

küçük ve merkezlerinin belirgin olduğu görüldü. Ancak tüm türlerin seyrek düşen kolonilerinin çapı diğerlerine göre daha büyük olmaktadır. Bu bulgular araştırmacıların(4,6,15,18,37,56,87) bildirdikleri ile uygunluk göstermektedir. Koloni morfolojilerindeki bu farklar mycoplasma türlerinin identifikasyonunda bir ön kriter olarak değerlendirilebilir.

Mycoplasmaların katı besiyerlerindeki kolonileri bakterilerin L formları ile karışabilmektedir(85). L formları daha büyük koloniler oluşturmakta ancak kötü şartlarda ve sık olarak ürediklerinde mycoplasmalarla kolayca karışırlar. Sıvı besiyerlerinde ise mycoplasmalar hafif bir bulanıklık yapmalarına rağmen L formları daha fazla bulanıklık ve tortu yapmaktadır, biyokimyasal aktiviteleri de yavaş gelişmesine rağmen parent bakteri ile aynıdır(62). Dienes boyası ile L formları da boyandığından bu yöntemle ayrılamadıkları bildirilmektedir(112). Bu nedenle çalışmada şüpheli kültürlerin antibiyotik ve talyum asetat katılmayan katı besiyerinde en az 3 pasajı yapıldıktan sonra koloni görünümü değişmeyenler mycoplasma olarak kabul edildi. Bu çalışmada L formu bir bakteriyel kontaminasyondan ziyade besiyerlerindeki inhibitör maddeler ve dilüsyon yöntemine rağmen yoğun bakteriyel üremelerin sorun oluşturduğu görüldü. Bu nedenle besiyerlerine selektiviteyi artırmak amacıyla mycoplasmaların üremesini etkilemeyen penicillin dışında diğer antibiyotiklerin katılması konusunda çalışmalara gerek vardır.

Mycoplasmaların identifikasyonu biyokimyasal testler ve serolojik yöntemlerle yapılmaktadır. Bu amaçla dijitionine duyarlılık, glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, fosfataz ve hemoliz testleri en yaygın olarak kullanılan testlerdir (18,21,35,50,107). Bu çalışmada izole edilen tüm mycoplasma suşlarının standart suşlarla karşılaştırmalı olarak yapılan biyokimyasal özellikleri yö-

nünden homojen oldukları görüldü. Bu sonuçlar diğer araştırmacıların (2,4,11,17,18,52,56,66)bulgularıyla benzerdir. Bu çalışmada mycoplasma türlerinin ayırımında glikoz fermentasyonu ve arjinin hidrolizi testlerinin en önemli testler olduğu kanısına varıldı. Glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi ile film ve spot oluşumu kùltivasyon prosedürü sırasında da görülebilmekte ve diğer identifikasyon çalışmalarına ışık tutmaktadır.

Mycoplasmaların serolojik identifikasyonu amacıyla üreme ihibisyon testi(GIT), üreme presipitasyon testi(GPT), floresan antikor testi(FAT), metabolik inhibisyon testi(MIT) ve tetrazolium redüksiyonunun inhibisyonu testi(TRIT) gibi serolojik yöntemler uygulanmaktadır(4,7,8,14,19,21,52,93,109). Bu çalışmada son derece spesifik oluşu ve uygulama kolaylığı nedeniyle en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden olan üreme inhibisyon testi suşların kesin identifikasyonunda kullanıldı.

Küçük ruminantların mycoplasma enfeksiyonları bir çok ülkede görülmekte olup hayvanların solunum sisteminden değişik mycoplasma türleri izole edilmiştir.St. George ve Carmichael(96) ABD'de kronik pnömonilli bir sürüden aldıkları 32 nazal sıvabın 18'inden *M. ovipneumoniae* (3'ünde tek başına gerisinde *M. arginini* ile birlikte) 24'ünden *M. arginini* izole ederken 19 akciğerin 3'ünden *M. ovipneumoniae* izole edildiğini ve akciğerlerin çoğundan aynı zamanda *Pasteurella sp.* *E. coli* ve *Klebsiella sp.* gibi bakterilerin izole edildiğini bildirmektedirler. St. George (95) değişik odaklardan sağlanan 66 pnömonilli akciğerin 37'sinden (%56) *Mycoplasma spp.* izole etmiş izole edilen 29 bakteri suşunun 14'ünü *Pasteurella spp.*, 5'ini *P. haemolytica*, 3'ünü *P. multocida*, 3'ünü *Neisseria spp.* ve 5'ini de *C. pyogenes* olarak identifiye etmiş, histopatolojik bulguların ise oldukça değişiklik gösterdiğini bildirmiştir. Bakke (11) Norveç'te mezbahadan aldığı 126 pnömonilli koyun akciğerinin %87'sinden, 83 normal akciğerin %6'sından *M.ovipneumoniae*, pnömonilli ak-

cigerlerin %45'inden ve normal akciğerlerin ise %16'sından diğer bakterileri izole etmiştir. İzole edilen bakterilerin %82'si *P.haemolytica* olup çoğunlukla *M. ovipneumoniae* ile birlikte bulunmuştur. Alley ve ark. (4) Yeni Zellanda'da yaptıkları çalışmada 63 pnömonili ve 27 sağlıklı koyundan aldıkları nazal sıvablardan sırasıyla %79 ve %63 oranlarında *M.ovipneumoniae* ve %52 ile % 33 oranlarında *M. arginini* izole etmişlerdir. Pasic (79) Yugoslavya'da 71 pnömonili akciğer örneğinin 51'inden(%66.2) mycoplasma izole etmiş bunların 35'ini (69) *M. ovipneumoniae*, 14'ünü(%27) *M. arginini* ve 2'sini(%4) *A. laidlawii* olarak tanımlamıştır. Radwan ve ark.(82) Suudi Arabistan'da solunum sistemi hastalığı görülen koyun ve keçilerden izole ettikleri 211 mycoplasma suşunun 116'sını tanımlayarak bunları *M.arginini*(53'ü nazal sıvab, 14'ü akciğer, 4'ü lenf nodülünden), *M.ovipneumoniae*(30), *M. conjunctivae* (11), *M. putrefaciens* (2 burun), *M. agalactiae* (1 keçinin plöra sıvısından), *M. mycoides subsp. mycoides* olarak belirlemişlerdir.

Sunulan bu çalışmada ise teşhis laboratuvarına getirilen ve mezbahadan alınan 215 pnömonili akciğer materyalinin 86'sından (%40) mycoplasma ve 66'sından (%30.6) diğer bakteriler izole edildi. İzole edilen 91 mycoplasma suşunun 23'ü (%25.2) *M. ovipneumoniae*, 66'sı (%72.5) *M. arginini*, 1'i (%1.09) *M. mycoides subsp. capri* ve 1'i (%1.09) de *M. agalactiae* olarak tanımlanmıştır. İzole edilen 148 bakteri suşunun ise 64'ü(%43.2) *P. haemolytica*, 28'i(%18.9) *Staphylococcus spp.*, 23'ü (%15.5) *A. pyogenes*, 21'i (%14.1) *E. coli* ve 12'si(%8.1) *Streptococcus spp.* olarak belirlendi. İzole edilen 23 *M. ovipneumoniae* suşunun 7'si, 66 *M. arginini* suşunun ise 23'ü tek başına geri kalanı *P. haemolytica* ve/veya diğer etkenlerle birlikte bulundu.

Bu çalışmada mycoplasma türü olarak en fazla *M. arginini* izole edildi.*M. arginini* koyun ve keçilerin pnömonili akciğerlerinden(2,4,29,90,92,96)

tonsillar ve retrofaringeal lenf yumrularından(50), farinks(18) ve burunlarından(4,17,66,96) sıklıkla izole edilmesine rağmen pnömoni oluşumundaki rolü tam olarak belirlenememiştir(20,29,30,40,50,52,65,67). Foggie ve Angus(40) Türkiye'de agalaksi ve keçi ciğer ağrısı hastalıkları üzerine yapılan çalışmalarda koyun ve keçilerden alınan nazal sıvablardan yaygın olarak izole edilen ve N tipi olarak adlandırılan(37) etkenin *M. arginini*'ye çok benzer olduğunu belirtmektedirler.Araştırmacılar aynı zamanda Türkiye'deki yayınlanmamış gözlemlerine dayanarak çeşitli nedenlerle ölen keçilerin akciğer, dalak, böbrek ve lenf yumrularından bu etkenin oldukça sık olarak izole edildiğini, bu nedenle vücut direncinin düştüğü durumlarda etkenin dokulara yayılabileceğini bildirmektedirler(40). Watson ve ark. (111) da ülkemizde agalaksi hastalığı üzerine yaptıkları çalışmalarında hayvanların burun mukozası, plöral sıvı, koltuk altı lenf yumruları ve gözlerinden N tipi mycoplasma izole ettiklerini bildirmektedirler.

M. arginini'nin muhtemel patojenite faktörü olarak diğer mikroorganizmaların özellikle *P.haemolytica*'nın invazyonunu kolaylaştırdığı ileri sürülmektedir(50). Doku kültürlerinde hücre gelişmesinin besiyerindeki arjinin'in, arjinin'i kullanan mycoplasmalar tarafından kullanılması nedeniyle engellendiği tesbit edilmiştir(110).Ayrıca in vitro olarak bu mikroorganizma ya da ekstraktlarının lenfosit sitümülasyonunu inhibe ettiği yalnızca arjinin'i kullanan türlerde görülen bu etkinin glikozu kullanan türlerde görülmediği, bu durumun *M. arginini* tarafından *P. haemolytica*'nın yayılmasını kolaylaştırıcı bir neden olabileceği bildirilmektedir(50). Bu çalışmada izole edilen 66 *M. arginini* suşundan 23'ü tek başına geri kalanı ise büyük oranda *P.haemolytica* olmak üzere diğer etkenlerle birlikte izole edilmiştir.

M. arginini önemli bir patojen olarak görülmediği halde 23 materyalden

tek başına izole edilmesi, bakterilerin oluşturulan lezyonların iyileşmesi için gerekli olan süreden daha kısa bir sürede akciğerlerden elimine edilmesine rağmen, mycoplasmaların alt solunum sisteminde uzun süre yaşayabildikleri görüşü ile(11,50) açıklanabilir.

Bu çalışmada izole edilen bir suş kültürel ve biyokimyasal özelliklerine göre *M. agalactiae* olarak tanımlanmıştır. *M. agalactiae* normal yerleşim yeri olmamasına rağmen solunum sisteminden de izole edildiği bildirilmektedir(20,29,52,67). Beşe ve Arda(15) 25 burun sıvabından 7(%28) *M. agalactiae* suşu izole etmişlerdir.

Bölgemizde keçi yetiştiriciliği yaygın olmadığından bu çalışmada fazla keçi akciğeri temin edilemedi. Onbir keçi akciğerinden yapılan ekimlerde 1 *M. mycoides subsp. capri*, 1 *M. ovipneumoniae* ve 4 *M. arginini* suşu izole edildi. *M. mycoides subsp. capri* doğal olarak yalnızca keçilerde hastalık oluşturan bir tür olup(20,29,51,69), çok değişik konakçılardan izole edilen *M. arginini*'nin(20,29,65,90) ve *M. ovipneumoniae*'nin (46,76,77,87,98) de keçilerden izole edildiği bildirilmektedir.

M. ovipneumoniae suşlarının in vitro olarak antibiyotiklere duyarlılığını araştıran Quinlan ve ark.(81) suşların çoğunun erythromycin, streptomycin ve chloramphenicol'e dirençli, tylosin'e nisbeten dirençli fakat tetracycline'e tamamen duyarlı olduğunu ; Jones ve ark (56) ise inceledikleri 9 *M. ovipneumoniae* suşunun tümünün chlortetracycline, oxytetracycline, gentamycin, kanamycin ve tylosin'e duyarlı; erithromycin, streptomycin, oleandomycin, polymixin B ve nystatin' e dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Arısoy ve ark (9) ' nin 10'u *M. agalactiae* 4'ü *M. mycoides subsp. capri* ve 1'i Keçilerin Ödemli Hastalığı suşları olmak üzere 15 suşa karşı in vitro olarak oxytetracycline, erythromycin ve tylosin'in etkilerini araştırdıkları çalışmada tylosin bütün suşlara karşı bakterisid

etkili, oxytetracycline *M. agalactiae* suşlarına karşı bakterisid diğerlerine bakteriostatik etkili, erythromycin ise 2 *M. mycoides subsp. capri* suşu hariç diğerlerine karşı dirençli bulunmuştur.

Sunulan bu çalışmada in vitro olarak bazı antibiyotiklere duyarlılıkları araştırılan 10 *M. ovipneumoniae* suşunun hepsi erythromycin ve streptomycin'e dirençli, oxytetracycline, chlortetracycline, gentamycin, tylosin, spiramycin, enrofloxacin ve lincospectin'e duyarlı bulunurken, 20 *M. arginini* suşunun tümü (%100) streptomycin'e, 15'i (%75) erythromycin'e, 9'u (%45) chlortetracycline'e, 6'sı (%30) gentamycin'e, 1'i (%5) oxytetracycline'e dirençli; suşların tümü (%100) tylosin, spiramycin, enrofloxacin ve lincospectin'e duyarlı bulundu.

Bu çalışmada izolasyon oranını etkileyen faktörler, materyallerin değişik kaynaklardan sağlanmış olması, belli sürülerde hastalık belirtilerini izleme ve aynı sürüdeki hayvanlardan uygun materyallerin seçilme imkanının olmayışı, materyallerin sağlandığı hayvanlara daha önce hangi tedavilerin uygulandığının bilinmemesidir. Ülkemizde bilinçsiz antibiyotik kullanımı yaygın olup, yetiştiriciler genellikle kendileri bir çok tedavi yöntemlerini uyguladıktan sonra sonuç alamadıkları durumlarda laboratuvara başvurmakta ya da hayvanlarını kesime göndermektedirler.

Sonuç olarak bu çalışmada incelenen pnömonili akciğer materyallerinin %40'ından mycoplasma izole edilmesi mycoplasmaların koyun pnömonilerinde primer ya da sekonder olarak önemli bir rolü olduğunu, ayrıca bu materyallerin %30.6'sından diğer bakterilerin izole edilmesi ve bir çok materyalde mycoplasmaların diğer bakterilerle birlikte bulunması pnömonilerin kompleks bir etiyolojiye sahip olduğunu göstermektedir. Histopatolojik incelemelerde değişik lezyon tipleri ile karşılaşmış olup atipik pnömoni bulguları ilk sırayı alırken bunu viral pnömoni bulguları izlemektedir. Atipik

pnömonilerin etiyolojisinden birinci derecede sorumlu tutulan *M. ovipneumoniae* ve daha az öneme sahip görülen *M. arginini*'nin bu çalışma ile ülkemizde ilk olarak izolasyonları yapılmıştır. Daha önce klinik gözlemler ve histopatolojik incelemelere göre bölgemizde yaygın olarak varlığı bildirilen atipik pnömoniler mikrobiyolojik çalışmalarla da ortaya konmuştur.

Pnömoni konusunda yapılacak çalışmalarda bakteriyel, viral, paraziter etkenler ve histopatolojik bulguların birlikte değerlendirilmesi gerekir.

ÖZET

Pnömonili, koyun ve keçi akciğerlerinden mycoplasmaların izolasyon ve identifikasyonlarının yapıldığı bu çalışma ile koyun - keçi pnömonilerinde mycoplasmaların rolü araştırıldı.

Bu amaçla Konya Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Teşhis Laboratuvarına değişik sürülerden getirilen 115 adet (70 kuzu, 34 koyun, 6 oğlak, 5 keçi) ve Konya E.B.K. Mezbahasından alınan 100 adet (75 kuzu, 25 koyun) olmak üzere toplam 215 adet pnömonili akciğer materyali kullanıldı. Bu materyallerin 86'sından (% 40) mycoplasma etkenleri izole edildi. Aynı zamanda yapılan bakteriyolojik ekinlerde 66 akciğerden (% 30.6) başta *P. haemolytica* (% 43.2) olmak üzere diğer bakteriler izole edildi.

İzole edilen mycoplasma suşları koloni morfolojileri, digitonin'e duyarlılık, glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, fosfataz ve hemoliz oluşumu gibi biyokimyasal testler ve üreme inhibisyon (GI) testi ile identifiye edildiler. İzole edilen 91 mycoplasma suşunun 66'sı (% 72.5) *M. arginini*, 23'ü (% 25.2) *M. ovipneumoniae*, 1'i (% 1.09) *M. mycoides subsp. capri* ve 1'i (% 1.09) da *M. agalactiae* olarak identifiye edildi. İzole edilen 23 *M. ovipneumoniae* suşunun 7'si, 66 *M. arginini* suşunun ise 23'ü tek başına geri kalanı ise *P. haemolytica* ve veya diğer etkenlerle birlikte bulundu.

On *M. ovipneumoniae* ve 20 *M. arginini* suşu ile yapılan antibiyogram testinde tüm *M. ovipneumoniae* suşları erythromycin ve streptomycin'e dirençli; oxytetracycline, chlortetracycline, gentamycin, tylosin, spiramycin, enrofloxacin ve lincospectin'e duyarlı bulunurken, *M. arginini* suşlarının tümü streptomycin'e 15'i erythromycin'e 9'u chlor-teracycline'e, 6'sı gentamycin'e ve 1'i de oxytetracycline'e dirençli; tümü ise tylosin, spiramycin, enrofloxacin ve lincospectin'e duyarlı bulundu.

Histopatolojik incelemesi yapılan 52 pnömonili akciğer örneğinin 15'inde (% 28.8) atipik pnömoni, 11'inde (% 21.1) pulmoner adenomatosis, 10'unda (% 19.2) viral pnömoni bulguları (P1₃, maedi-visna, respiratory syncytial virus ve diğ.), 8'inde (% 15.3) kataral purulent bronkopnömoni, 6'sında (% 11.5) fibrinli pnömoni ve 2'sinde (% 3.8) de verminöz pnömoni bulguları tesbit edildi. Histopatolojik incelemesi yapılan akciğer örneklerinden izole edilen 11 *M. ovipneumoniae* suşunun 10'u atipik pnömoni 1'i fibrinli pnömoni bulguları tesbit edilen materyallerden izole edilirken *M. arginini* hemen tüm pnömoni tiplerinden izole edildi.

Sonuç olarak *M. arginini* ve *M. ovipneumoniae*'nin pnömonili koyun akciğerlerinden en yaygın izole edilen mycoplasma türleri olduğu ve çoğu materyallerde başta *P. haemolytica* olmak üzere diğer bakterilerle birlikte bulunmaları nedeniyle mycoplasmaların koyun pnömonilerinde primer ya da sekonder olarak önemli bir rolü olduğu kanısına varıldı. *M. ovipneumoniae* ve *M. arginini* suşlarının bazı antibiyotiklere in vitro duyarlılık testinde suşların streptomycin ve erithromycin'e nisbeten dirençli oldukları görüldü.

SUMMARY

Isolation, identification and antibiotic sensitivities of mycoplasmas from pneumonic sheep and goat lungs in Konya Region

In this study, the roles of mycoplasmas in pneumonias of sheep and goats were investigated.

For this purpose, 115 pneumonic lung samples (belong to 70 lambs, 34 sheep, 6 kids, 5 goats) which brought to Konya Animal Disease Research Institute from different flocks and 100 pneumonic lung samples (belong to 75 lambs, 25 sheep) taken from Abattoir of Meat and Fish Organization in Konya, in total 215 pneumonic lung samples were examined.

Mycoplasmas were isolated from 86 pneumonic lungs (40 %), also different bacteria were isolated from 66 pneumonic lungs (30,6 %). The most isolated bacterium was *P. haemolytica* (43.2 %).

Isolated mycoplasma strains were identified on the basis of cultural characteristics, colonial morphologies and biochemical properties such as sensitivity to digitonin, glucose fermentation, arginine hydrolysis, tetrazolium reduction, phosphatase production, film and spot formation, haemolysis of sheep erythrocyte and serologically with growth inhibition test (GIT).

Of the isolated 91 strains; 66 (72.5 %) were *M. arginini*, 23 (25.2 %) were *M. ovipneumoniae*, 1 (1,09 %) was *M. mycoides subsp. capri* and 1 (1.09 %) was *M. agalactiae*. Seven of 23 *M. ovipneumoniae* strains and 23 of 66 *M. arginini* strains as were found alone, the remains of isolates were in combination with *P. haemolytica* and/or other bacteria.

In vitro sensitivity of 10 *M. ovipneumoniae* and 20 *M. arginini* strains to antibiotics were investigated. All strains of *M. ovipneumoniae* isolates were resistant to erythromycin and streptomycin, were sensitive to oxytetracycline, chlortetracycline, gentamycin, tylosin, spiramycin, enrofloxacin and lincospectin. All *M. arginini* strains were resistant to streptomycin and 15 strains to erythromycin, 9 strains to chlortetracycline, 6 strains to gentamycin, 1 strain to oxytetracycline were resistant. All of the *M. arginini* strains were sensitive to tylosin, spiramycin, enrofloxacin and lincospectin.

Fifty-two lung tissues were examined histopathologically. In 15 lungs (28.8 %) atypical pneumonia (chronic proliferative interstitial pneumonia and lymphoid hyperplasia) in 11 lungs (21.1 %) pulmonary adenomatosis, in 10 lungs (19.2 %) viral pneumonia findings (PI₃, maedi-visna, respiratory syncytial virus and other), in 8 lungs (15.3 %) catharral, purulent bronchopneumonia, in 6 lungs (11.5 %) fibrinous pneumonia and in 2 lungs (3.8 %) verminous pneumonia were determined.

When histopathological and mycoplasmal isolation findings were compared, 10 of 11 *M. ovipneumoniae* strains isolated from histopathologically examined materials was isolated from atypical pneumonia and 1 of them isolated from fibrinous pneumonia lesions. But *M. arginini* was isolated almost all lesions types.

In conclusion, it is apparent that *M. arginini* and *M. ovipneumoniae* were the most commonly recovered mycoplasma strains in pneumonic lungs. Their generally presence with other bacteria notably *P. haemolytica* may indicate that mycoplasmas have a primary role in pneumonia or a role in the lung damaged by other microorganisms. In vitro sensitivities of *M. ovipneumoniae* and *M. arginini* to antibiotics showed relative insensitivity of strains to streptomycin and erythromycin.

LİTERATÜR LİSTESİ

- 1- Aktan, M. Güley, M., ve Doğuer, M. (1955) Türkiye koyunlarında izole edilen pleura pneumonia gurubuna dahil patojen mikroorganizmalar, *Türk Vet. Hek. Dern. Derg.* 25 (108-109), 2463-2477.
- 2- Al-Aubaidi, J. M., Taylor, W.I., Bubash, G. R., and Dardiri, A. H. (1972) Identification and characterization of *Mycoplasma arginini* from bighorn sheep (*Ovis canadensis*) and goats. *Am. J. Vet. Res.* 33 (1), 87-90.
- 3- Alley, M. R., and Clarke, J. K. (1979) The experimental transmission of ovine chronic non-progressive pneumonia, *N. Z. Vet. J.* 27, 217-220.
- 4- Alley, M.R. Quinlan, J. R., and Clarke, J. K. (1975) The prevalence of *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Mycoplasma arginini* in the respiratory tract of sheep, *N. Z. Vet. J.* 23 (7) 137-141.
- 5- Arda, M. (1981) Genel Bakteriyoloji, A. Ü. Vet. Fak. Yay. No. 369, 596-440, A. Ü. Basımevi, Ankara.
- 6- Arda, M. (1982) Mikoplazma İnfeksiyonları "Özel Mikrobiyoloji" Ed. M. Arda, A. Minbay, N. Aydın, 547-580, A. Ü. Vet. Fak. Yay. No. 386, A. Ü. Basımevi, Ankara.
- 7- Arda, M., ve Beşe, M. (1974) Yurdumuzda izole edilen *M. capri* suşlarının üreme-inhibisyon ve agar-jel diffüzyon teknikleri ile antijenik analizleri üzerinde araştırmalar, *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* 21, 26-33.
- 8- Arısoy, F., ve Erdağ, O. (1977) Türkiyede keçi ciğer ağrısı etkeni suşlarının antijenik tiplerinin saptanması ve bu hastalığa karşı aşı geliştirilmesi, *Pendik Vet. Bakt. ve Ser. Enst. Derg.* 9 (1), 53-74.

- 9- **Arısoy, F., Etheridge, J.R., ve Foggie, A.** (1969) Türkiyede koyun ve keçilerden izole edilmiş 15 mycoplasma suşunun üremesine in vitro olarak oxytetracyclin, erythromycin ve tylosinin tesiri, *Pendik Vet. Kont. ve Arş. Enst. Derg.* 2 (1), 144-149.
- 10- **Aytuğ, C. N.** (1987) Kuzuların enzootik pnömonisi, *S. Ü. Vet. Fak. Koyun yetiştiriciliği ve hastalıkları sempozyumu*, 113-120, 11-12 Mayıs Konya.
- 11- **Bakke, T.** (1982) The occurrence of mycoplasmas and bacteria in lungs from sheep in southern Norway, *Acta Vet. Scand.* 23, 235-247.
- 12- **Barile, M. F.** (1983) Arginin hydrolysis, In "Methods in mycoplasmaology", Vol. I, Ed. S. Razin, J. G. Tully, 83-88, *Academic Press, New York*.
- 13- **Baysal, T., ve Güler, L.** (1992) Konya yöresindeki kuzu ve oğlakların enzootik pnömonilerinden bakteriyel etken izolasyonu, *Veterinarium*, 3 (1), 1-5.
- 14- **Beşe, M.** (1963) Keçi ciğer ağrısı hastalık etkeninin (*M. mycoides var. capri*) izolasyonu, biyolojik, biyosimik ve serolojik özellikleri, *A. Ü. Vet. Fak. Yay.* 155, *Çalışmalar No.* 93.
- 15- **Beşe, M., Arda, M.** (1969) Koyunlarda *Mycoplasma agalactiae*'nin ilk izolasyonu üzerinde araştırmalar, *A. Ü. Vet. Fak. Derg.* 16, 257-266.
- 16- **Brown, G.G.** (1969) Primer of histopathologic technique, 123-124 and 137-138, *Meredith Corporation New York*.
- 17- **Brogden, K.A., Rose, D., Cutlip, R.C., Lehmkuhl, H.D., and Tully, J.G.** (1988) Isolation and Identification of mycoplasmas from the nasal cavity of sheep, *Am. J. Res.* 49 (10), 1969-1972.
- 18- **Carmichael, L.E., George, T.D. St., Sullivan, N.D., and Horsfall, N.** (1972) Isolation, propagation and characterization studies of an ovine mycoplasma responsible for proliferative interstitial pneumonia, *Cornell Vet.* 62 (4), 654-679.
- 19- **Clyde, Jr. W.A.** (1983) Growth inhibition tests, In "Methods in mycoplasmaology", Vol. I Ed. S. Razin, J. G. Tully, 405-409, *Academic Press, New York*.

- 20- **Cottew, G.S.** (1979) Caprine-Ovine mycoplasmas, In "*The Mycoplasmas*", Vol. II *Human and animal mycoplasmas*, Ed. J.G. Tully, R.F. Whitcomb, 103-132, Academic Press, New York.
- 21- **Cottew, G.S.** (1983) Recovery and identification of caprine and ovine mycoplasmas, In "*Methods in mycoplasmaology*" Vol. II *Diagnostic mycoplasmaology* Ed. J. G. Tully, S. Razin, 91-104, Academic Press, New York.
- 22- **Cottew, G.S., Watson, W.A., Erdağ, O., and Arisoy, F.** (1969) Mycoplasmas of caprine pleuropneumonia in Turkey and their relationship to other mycoplasmas of goats and *M. mycoides* var. *mycoides*, *J. Comp. Path.* 79, 541-551.
- 23- **Da Massa, A.J.** (1990) The ear canal as a culture site for demonstration of mycoplasmas in clinically normal goats, *Aust. Vet. J.* 67 (6), 267-269.
- 24- **Da Massa, A.J., and Brooks, D.L.** (1991) The external ear canal of goats and other animals as a mycoplasma habitat, *Small Rum. Res.* 4, 85-93.
- 25- **Da Massa, A.J., Brooks, D.L., and Adler, H.E.** (1983) Caprine mycoplasmosis: Widespread infection in goats with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large-colony type) *Am. J. Vet. Res.* 44 (2), 322-325.
- 26- **Da Massa, A.J., Brooks, D.L., and Holmberg, C.A.** (1984) Pathogenicity of *Mycoplasma capricolum* and *Mycoplasma putrefaciens*, *Isr. J. Med. Sci.* 20, 975-978.
- 27- **Da Massa, A.J., Brooks D.L., and Holmberg, C.A.** (1986) Induction of mycoplasmosis in goat kids by oral inoculation with *Mycoplasma mycoides* subsp *mycoides*, *Am. J. Vet. Res.* 47 (9), 2084-2089.
- 28- **Da Massa, A.J., Holmberg, C.A., and Brooks, D.L.** (187) Comparison of caprine mycoplasmosis caused by *Mycoplasma capricolum*, *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*, and *Mycoplasma putrefaciens*, (1987) *Isr. J. Med. Sci.* 23, 636-640.
- 29- **Da Massa, A.J., Wakenell, P.S., and Brooks, D.L.** (1992) Mycoplasmas of goats and sheep, *J. Vet. Diagn. Invest.* 4 (1), 101-113.

- 30- **Davies, D.H.**(1985) Aetiology of pneumonias of young sheep, *Prog. Vet. Microbiol. Immun.* 1, 229-248.
- 31- **Davies, D.H., Jones, B.A.H., and Thurley, D.C.** (1981) Infection of specific-pathogen - free lambs with *parainfluenza virus type 3*, *Pasteurella haemolytica* and *Mycoplasma ovipneumoniae*, *Vet. Microbiol.* 6, 295-308.
- 32- **Durusan, R., ve Doğuer, M.** (1955) Türkiyede kuzuların akciğerlerinden izole edilen plöropnömonia grubuna dahil organizmler, *Türk Vet. Hek. Derg.* 25 (104), 2217-2230.
- 33- **Edward, D.G, and Freundt, E.A.** (1956) The classification and nomenclature of organisms of the pleuropneumonia group, *J. Gen. Microbiol.* 14, 197-207.
- 34- **Erdağ, O.** (1972) Kuzu pneumonisinde mycoplasma organizmlerinin önemi, *Pendik Vet. Kont. ve Arş. Enst. Derg.* 5 (2), 15-20.
- 35- **Erdağ, O. Türkaslan, J.** (1990) Mikoplasma teşhisinde genel kriterler, Seminer notları, *Pendik Hay. Hast. Mer. Arş. Enst.* 6-10 Haziran, İstanbul.
- 36- **Erdağ, O., and Cottew, G.S.** (1971) Koyun ve keçilerden izole edilen mycoplasma organizmlerinde gel - electrophoresis tekniğiyle protein ayrışımı, *Pendik Vet. Kont. ve Arş. Enst. Derg.* 4 (1), 78-84.
- 37- **Erdağ O., Arısoy, F., Watson, W.A., Cottew, G.S., ve Foggie, A.** (1967) Türkiyede koyun ve keçilerden izole edilen *Mycoplasma agalactiae* suşlarının tiplerinin ayırımı, *Pendik Vet. Kont. ve Arş. Enst. Derg.* 1 (1), 26-34.
- 38- **Erno, H.** (1987) Mycoplasmosis of ruminants : a general introduction, *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 6 (3), 553-563.
- 39- **Fernald, G. W.** (1979) Humoral and cellular immune responses to mycoplasmas, In "The Mycoplasmas" Ed. J. G. Tully, R. F. Whitcomb, Vol II. Human and animal mycoplasmas, 399-420, Academic Press, New York.

- 40- **Foggie, A., and 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.* 11; 312-313.
- 41- **Foggie, A., Jones, G.E., and Buxton, D.** (1976) The experimental infection of specific pathogen free lambs with *Mycoplasma ovipneumoniae*, *Res. Vet. Sci.* 21, 28-35.
- 42- **Freundt, E.A.** (1983) Principles of mycoplasma, classification and taxonomy, In "*Methods in mycoplasmaology*" Vol. I, Ed. S. Razin, J.G. Tully, 9-13, Academic Press, New York.
- 43- **Freundt, E.A.** (1983) Culture media for classical mycoplasmas, In "*Methods in mycoplasmaology*" Vol. I, Ed. S. Razin, J.G. Tully, 127-135, Academic Press, New York.
- 44- **Freundt, E.A.** (1983) Film and spot production, In "*Methods in mycoplasmaology*" Vol. I, Ed. S. Razin, J.G. Tully, 373-374, Academic Press, New York.
- 45- **Frey, H. L., Hanson, R. P., and Anderson, D. P.** (1968) A medium for the isolation of avian mycoplasmas, *Am. J. Vet. Res.* 29 (11), 2163-2169.
- 46- **Goltz, J.P., Rosendal, S., Mc Craw, B.M., and Ruhnke, H.L.** (1986) Experimental studies on the pathogenicity of *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Mycoplasma arginini* for the respiratory tract of goats, *Canad. J. Vet. Res.* 1, 59-67.
- 47- **Greig, A.S.** (1955) The isolation of pleuropneumonia like organism from the respiratory tracts of sheep, *Canad. J. Comp. Med.* 19, 265-271.
- 48- **Gupta, P. P., Soad, N., and Banga, H. S.** (1988) Pathogenicity of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large-colony type) for sheep, *Indian Vet. J.* 65, 475 - 477.
- 49- **Jonas, G., Mew, A.J., Alley, M.R., Clarke, W.K., Robinson, A.J., and Marshall, R.B.** (1985) Colonisation of the respiratory tract of lambs by strains of *Mycoplasma ovipneumoniae*, *Vet. Microbiol.* 10, 533-539.
- 50- **Jones, G.E.** (1978) Studies on mycoplasmas of the respiratory tract of sheep, *PhD thesis, University of Edinburgh.*

- 51- **Jones, G.E.** (1983) Mycoplasmas of sheep and goats: A synopsis, *Vet. Rec.* 24 (31), 619-620.
- 52- **Jones, G.E.** (1989) Contagious-caprine pleuro-pneumonia, *Off. Int. Epiz. Technical series No. 9*, Paris.
- 53- **Jones, G.E., and Gilmour, J.S.** (1983) Atypical pneumonia, In "*Diseases of sheep*" Ed. W.B. Martin, 17-23, Blackwell Scientific Publications, London.
- 54- **Jones, G.E., Gilmour, J.S., and Rae, A.G.** (1982) The effect of *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Pasteurella haemolytica* on specific pathogen-free lambs, *J. Comp. Path.* 92, 261-266.
- 55- **Jones, G.E., Gilmour, J.S., and 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.
- 56- **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.* 9, 39-51.
- 57- **Jones, G.E., Gilmour, J.S., Rae, A.G., Mc Lauchlan, M., and Nettleton, P.F.** (1986) A review of experiments on the reproduction of chronic pneumonia in sheep by the use of pneumonic lung homogenate suspensions, *Vet. Bulletin*, 56 (4), 251-262.
- 58- **Jones, G.E., Field, A.C., Gilmour, J.S., Rae, A.G., Nettleton, P.F., and Mc Lauchlan, M.** (1982) Effects of experimental chronic pneumonia on bodyweight, feed intake and carcass composition of lambs, *Vet. Rec.* 20, 168-173.
- 59- **Kahraman M.** (1975) Koyunlarda pneumoniye sebep olan Psittacosis lymphogranuloma gurup viruslar üzerinde araştırmalar, *A.Ü. Elazığ Vet. Fak. Yay. I.*
- 60- **Kaya, O., and Erganiş, O.** (1991) Koyun ve kuzu pneumonileri üzerinde etiyolojik survey, *Veterinarium*, 2 (3-4), 27-29.

- 61- **Kıran, M.M.** (1990) Konya bölgesi kuzu pnömonilerinde patolojik ve etiyolojik araştırmalar, *Doktora tezi, S.Ü. Vet. Fak. Konya.*
- 62- **Klieneberger-Nobel, E.** (1962) Pleuropneumonia-like organisms (PPLO) Mycoplasmataceae, *Academic Press, London.*
- 63- **Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R., and Sommers, H.M.** (1983) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 2. ed. *J.B. Lippincott Company, Philadelphia.*
- 64- **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.
- 65- **Leach, R.H.** (1970) The occurrence of *Mycoplasma arginini* in several animal hosts, *Vet. Rec.* 87, 319-320.
- 66- **Leach, R.H., Cottew, G.S., Andrews, B.E. and Powell, D.G.** (1976) Atypical mycoplasmas from sheep in Great Britain and Australia identified as *Mycoplasma ovipneumoniae*, *Vet. Rec.* 98, 377-379.
- 67- **Lefevre, P.C. Jones, G.E., et Ojo, M.O.** (1987) Les mycoplasmoses pulmonaires des petit ruminants *Rev. Sci. Tech Off. Int. Epiz.* 6 (3), 713-757.
- 68- **Mackay, J.M.K., Nisbet, D.I., and Foggie, A.** (1963) Isolation of pleuropneumonia-like organisms (genus mycoplasma) from cases of sheep pulmonary adenomatosis, *Vet. Rec.* 75 (21), 550-551.
- 69- **Mac Owan, K.J.** (1989) Contagious caprine pleuropneumonia (CCPP), International symposium on mycoplasmosis and theileriosis, *Pendik Hay. Hast. Mer. Arş. Enst. Yay.* No.10, 23-41 *İstanbul.*
- 70- **Major, R.M., Clarke, J.K., and Alley, M.R.** (1977) An in vitro study of the replication of *Mycoplasma ovipneumoniae*, *N.Z. Vet. J.* 27, 58-61.
- 71- **Malone, F.E., Mc Cullough, S.J., Mc Loughlin, M.F. Ball, H.J., and O'Hagan, J.** (1988) Infectious agents in respiratory disease of housed, fattening lambs in Northern Ireland, *Vet. Rec.* 122, 203-207.

- 72- **Martin, W.B.** (1983) Respiratory diseases induced in small ruminants by viruses and mycoplasma, *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2 (2), 311-334.
- 73- **Mc Ilroy, S.G., Goodall, E.A., Mc Cracken, R.M., and Stewart, D.A.** (1989) Rain and windchill as factors in the occurrence of pneumonia in sheep, *Vet. Rec.* 125, 79-82.
- 74- **Menoueri, N., Richard, Y., Brunet, J., et Oudar, J.** (1988) Flore bacterienne aerobie et aero-anaerobie des cavites nasales de l'agneau de bergerie, *Ann. Rech. Vet.* 19, 175-180.
- 75- **Mew, A.J., Ionas, G., Clarke, J.K., Robinson, A.J., and Marshall, R.B.** (1958) Comparison of *Mycoplasma ovipneumoniae* isolates using bacterial restriction endonuclease DNA analysis and SDS - PAGE, *Vet. Microbiol.* 10, 541-548.
- 76- **Mohan, K., and Oblowo, M.J.** (1990) *Mycoplasma ovipneumoniae* pathogenesis in experimentally infected sheep and goats, *Booklet of abstracts of the 8th international organisation for mycoplasmaology*, Vol. I. Istanbul.
- 77- **Mohan, K., Oblowo, M.J., and Hill, F.W.G.** (1992) *Mycoplasma ovipneumoniae* infection in Zimbabwean goat and sheep. *J. Comp. Path.* 107, 73-79.
- 78- **Nicolet, J. Tontis, A., Giger, Th., Schallibaum, M. Wüthrich-Parviainen, P., Krawinkler, M., Paroz, Ph., Bestetti, G., and Boss, P.H.** (1979) Beteiligung von *Mycoplasma ovipneumoniae* bei einer enzootisch auftretenden, proliferativen interstitiellen pneumonie der schafe, *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 121, 341-353.
- 79- **Pasic, S., and Miroslava, P.** (1989) Proucavanje ovinih mikoplazmi u Bosni i Hercegovini, *Veterinaria*, 38 (3-4), 307-311.
- 80- **Pfeffer, A. Thurley, D.C., Boyes, B.W., Davies, D.H., Davis, G.B., and Price, M.C.** (1983) The prevalence and microbiology of pneumonia in a flock of lambs, *N.Z. Vet. J.* 31, 196-202.
- 81- **Guinlan, J.R., Alley, M.R., and Clarke, J.K.** (1975) In vitro sensitivity of New Zealand strains of *Mycoplasma ovipneumoniae* to some antibiotics *N.Z. Vet. J.* 25 (9), 188-199.

- 82- **Radwan, A.I., Al-Zeftawi, N.M., Al-Issa, M.A., Bekairi, S.I., and Al-Mulcayel, A.A.** (1985) Mycoplasmas isolated from goats and sheep with pleurapneumonia in Saudi Arabia, *Trop. Hlt. and Prod.* 17 (4), 233-238.
- 83- **Razin, S.** (1978) The mycoplasmas, *Microbiol. Rev.* 42 (2), 414-470.
- 84- **Razin, S.** (1983) Characteristics of the mycoplasmas as a group, In "Methods in mycoplasmaology" Vol. I, Ed. S. Razin, J.G. Tully, 3-7, Academic Press, New York.
- 85- **Razin, S.** (1983) Identification of mycoplasma colonies, In "Methods in mycoplasmaology" Vol. I, Ed. S. Razin, J.G. Tully, 83-88, Academic Press, New York.
- 86- **Razin, S., and Cirillo, V.P.** (1983) Sugar fermentation, In "Methods in mycoplasmaology", Vol. I, Ed. S. Razin, J.G. Tully, 337-343, Academic Press, New York.
- 87- **Razin, S., and Freundt, E.A.** (1984) The mycoplasmas, In "Bergey's manual of systematic bacteriology", Vol. I. Ed. N.R. Krieg, J.G. Holt, 740-780, Williams and Wilkins, Baltimore.
- 88- **Razin, S., and Tully, J.G.** (1970) Cholesterol requirement of mycoplasmas, *J. Bacteriol.* 102 (2), 306-310.
- 89- **Sentertif, L.B.** (1983) Preparation of antigens and antisera, In "Methods in mycoplasmaology" Vol. I, Ed. S. Razin, J.G. Tully, 401-404, Academic Press, New York.
- 90- **Sheikh-Omar, A.R., Mutalib, A.R.** (1985) Isolation of *Mycoplasma arginini* from a goat in Malaysia, *Vet. Rec.* 116 (12), 330-331.
- 91- **Smith, G.R., Hooker, J.M., and Milligan, R.A.** (1980) Further studies on caprine and ovine mycoplasmas related to *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides*, *J. Hyg. Camb.* 85, 247-256.
- 92- **Sreeramulu, P., Krishnaswamy, Rao, D.G., and Rao, P.R.** (1987) Histopathological changes in natural and experimental mycoplasmal pneumonias of sheep, *Indian Vet. J.* 64, 452-455.
- 93- **Stalheim, O.H.V.** (1985) Mycoplasmas of animals, In "Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology", Ed. G.R. Carter, 263-288. Iowa State University Press, Iowa.

- 94- **Stamp, J.T., and Nisbet, D.I.** (1963) Pneumonia of sheep, *J. Comp. Pathol.* 73, 319-328.
- 95- **St. George, T.D.** (1972) Investigations of respiratory disease of sheep in Australia, *Aust. Vet. J.* 48, 318-322.
- 96- **St. George, T.D., and Carmichael, L.E.** (1975) Isolation of *Mycoplasma ovipneumoniae* from sheep with chronic pneumonia, *Vet. Rec.* 97, 205-206.
- 97- **St. George, T.D., Sullivan, N.D., Love, J.A., and Horsfall N.** (1971) Experimental transmission of pneumonia in sheep with a mycoplasma isolated from pneumonic sheep lung, *Aust. Vet. J.* 47, 282-283.
- 98- **Su, J., Liu, M., Cheng, J., Perng, Y., Lin P., and Liu, C.**(1983) The isolates of mycoplasmatales from goat and sheep in Taiwan, *J. Chinese Soci. Vet. Sci.* 9 (2), 187-196.
- 99- **Sullivan, N.D., St. George, T.D., and Horsfall, N.** (1973) A proliferative interstitial pneumonia of sheep associated with mycoplasma infection: 1. Natural history of the disease in a flock. *Aust. Vet. J.* 49, 57-62.
- 100- **Sullivan, N.D., St. George, T.D., and Horsfall, N.** (1973) A proliferative interstitial pneumonia of sheep associated with mycoplasma infection: 2. The experimental exposure of young lambs to infection, *Aust. Vet. J.* 49, 63-68.
- 101- **Thirkell, D., Spooner, R.K., Jones, G.E., and Russell, W. C.**(1990) Polypeptide and antigenic variability among strains of *Mycoplasma ovipneumoniae* demonstrated by SDS - PAGE and Immunoblotting, *Vet. Microbiol.* 21 (3), 241-254.
- 102- **Thirkell, D., Spooner, R. K., Jones, G. E., and Russell, W. C.** (1990) The humoral immune response of lambs experimentally infected with *Mycoplasma ovipneumoniae*, *Vet. Microbiol.* 24 (2), 143-153.

- 103- **Thirkell, D., Spooner, R. K., Joner, G. E., Russell, W. C., and Voice, M. W.** (1991) Cross-reacting antigens between *Mycoplasma ovipneumoniae* and other species of mycoplasma of animal origin, shown by ELISA and immunoblotting with reference antisera, *Vet. Microbiol.* 26, 249-261.
- 104- **Thurley, D.C., Boyes, B.W., Davies, D. H. Wilkins, M.F., O'Connell, E., and Humphreys, S.** (1977) Subclinical pneumonia in lambs, *N. Z. Vet. J.* 25, 173-176.
- 105- **Tully, J.G.** (1983) General cultivation techniques for mycoplasmas and spiroplasmas, In "*Methods in mycoplasmaology*" Vol. I, Ed. S. Razin, J.G. Tully, 99-101, *Academic Press, New York*.
- 106- **Tully, J.G.** (1983) Tests for digitonin sensitivity and sterol requirement, In "*Methods in mycoplasmaology*" Vol. I, Ed. S. Razin, J.G. Tully, 355-362, *Academic Press, New York*.
- 107- **Türktaşlan, J.** (1988) Koyun ve keçi mikoplazmalarının biyolojik karakterlerine göre identifikasyonu, *Pendik Hay. Hast. Mer. Arş. Enst. Derg.* 19 (1-2), 44-53.
- 108- **Türktaşlan, J. Arısoy, F.** (1990) Türkiye'de salgın keçi ciğer ağrısı (CCPP) olaylarından F 38 suşunun izolasyonu, *Pendik Hay. Hast. Mer. Arş. Ens. Derg.* 21 (1), 25-29.
- 109- **Türktaşlan, J., ve Salihoğlu, H.** (1989) Mikoplazma kültürlerinin üreme inhibisyon testi ile identifikasyonu, *Pendik Hay. Hast. Mer. Arş. Enst. Derg.* 20 (2), 60-64.
- 110- **Wallace, A., and Clyde, Jr.** (1983) Mycoplasma-animal host interrelationships, In "*Methods in mycoplasmaology*", Vol. I, Ed. S. Razin, J.G. Tully 15-20, *Academic Press, New York*.
- 111- **Watson, W.A., Cottew, G.S., Erdağ, O., Arısoy, F.** (1968) Tabii olarak enfekte olan koyunlarda homologous Mycoplasma suşunun aprüvesi ile muafiyet derecesinin tayini, *Türk Vet. Hek. Dern. Derg.* 38 (8), 14-17.
- 112- **Yoder, H. W. Jr.** (1985) Laboratory methods for mycoplasmas, In "*Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology*" Ed. G.R. Carter, 489-495, *Iowa State University Press, Iowa*.

TEŞEKKÜR

Doktora Tez çalışmamda ilgi ve yardımlarını gördüğüm, doktora danışmanım Sayın **Doç. Dr. Mehmet ATEŞ**'e, Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi **Doç. Dr. Osman Erganiş**'e ve Etlik Hay. Hast. Arş. Enst. Patoloji Laboratuvarı Şefi **Uzm. Vet. Hekim Hamdi Girgin**'e teşekkür ederim.



ÖZ GEÇMİŞ

1962 yılında Malatya'nın Arapgir İlçesi'nde doğdum. İlk, Orta ve Lise öğrenimimi Arapgir'de tamamladım. 1984 yılında F. Ü. Veteriner Fakültesi'nden mezun oldum. 1986 yılında Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Konya İl Müdürlüğü Hayvan Sağlığı Şubesi'nde göreve başladım. Daha sonra Konya Vet. Sağ. Tekn. Meslek Lisesi ve İl Kontrol Laboratuvarlarında çalıştım. 1988 yılında Konya Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsüne tayin oldum. Halen aynı Enstitüde Uzman Vet. Hekim olarak görev yapmaktayım. Evli ve 2 çocuk annesiyim.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**