



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PNÖMONİLİ KOYUN AKCİĞERLERİNDE *MYCOPLASMA* TÜRLERİNİN
MOLEKÜLER OLARAK ARAŞTIRILMASI**

HABİP SACILIK

VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**Şanlıurfa
2025**



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PNÖMONİLİ KOYUN AKCİĞERLERİNDE *MYCOPLASMA* TÜRLERİNİN
MOLEKÜLER OLARAK ARAŞTIRILMASI**

HABİP SACILIK

**VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
Tez Danışmanı: Prof. Dr. OKTAY KESKİN**

**Şanlıurfa
2025**

TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca, bana yön veren, destek ve emeklerini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım tez danışmanım sayın Prof. Dr. Oktay KESKİN hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın uygulama sürecinde hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen Ana Bilim Dalı'mız öğretim üyeleri Prof. Dr. Osman Yaşar TEL'e, Prof. Dr. Sevil ERDENLİĞ GÜRBİLEK'e, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Murat SAYTEKİN'e, Dr. Öğr. Üyesi Ayfer GÜLLÜ YÜCETEPE'ye şükranlarımı sunarım. Ayrıca çalışmada bilimsel desteklerini esirgemeyen İstanbul Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü WOAH Mycoplasma Referans Laboratuvarına teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
SİMGELER	v
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	2
2.1. ETİYOLOJİ	4
2.1.1. <i>M. arginini</i>	5
2.1.2. <i>M. capricollum subsp. capripneumonie</i> (CCPP)	6
2.1.3. <i>M. mycoides subsp. capri</i>	7
2.1.4. <i>M. mycoides subsp. mycoides</i>	7
2.1.5. <i>M. agalactiae</i>	8
2.1.6. <i>M. ovipneumonie</i>	9
2.2. TEŞHİS	9
3. GEREÇ VE YÖNTEM	12
3.1. GEREÇ	12
3.1.1. Doku Örnekleri	12
3.1.2. Kullanılan Besiyerleri	12
3.1.3. Moleküler Analiz Gereçleri	13
3.1.3.1. DNA İzolasyonu Gereçleri	13
3.1.3.2. PCR Amplifikasyonu Gereçleri	14
3.1.3.3. Elektroforez gereçleri	16
3.2. YÖNTEM	16
3.2.1. Makroskobik incelemeler	16
3.2.2. Dokudan DNA Ekstraksiyonu	16
3.2.3. Kültür-PCR	16
3.2.4. Kültürden DNA Ekstraksiyonu	16
3.2.5. PCR Testi	17
3.2.6. PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi	17
4. BULGULAR	18
4.1. PCR Bulguları	18
4.1.1. Direkt Dokudan PCR Bulguları	18
4.1.2. Kültür-PCR Bulguları	18
5. TARTIŞMA	19
6. SONUÇLAR	24
7. ÖNERİLER	25
KAYNAKLAR	27
ÖZGEÇMİŞ	35
EKLER	36

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PNÖMONİLİ KOYUN AKCİĞERLERİNDE *MYCOPLASMA* TÜRLERİNİN MOLEKÜLER OLARAK ARAŞTIRILMASI

HABİP SACILIK

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tez Danışman: Prof. Dr. OKTAY KESKİN

Yıl: 2025, Sayfa : 35

Bu çalışmada, Şanlıurfa’da mezbahanede kesilen koyunların akciğerlerinde makroskopik olarak tespit edilen pnömoni lezyonlarından *Mycoplasma* türlerinin varlığının moleküler tekniklerle araştırılması amaçlandı. Bu amaçla Siverek bölgesinde, mezbahanede 10 farklı sürüden kesim sonrasında akciğerlerinde makroskopik lezyonlar bulunan 10’ar akciğer olacak şekilde toplam 100 adet akciğer numunesi alındı. Soğuk zincirde Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarına getirildi ve pnömoni olarak değerlendirilen örneklerden biri direkt PCR’da kullanılmak üzere dokudan DNA ekstraksiyonu için, diğeri ise kültür-PCR yöntemi ile inceleme için iki seri örnek alındı. Doku örneklerinden ve aynı zamanda da ekim yapılan besi yerlerinden DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Elde edilen DNA örnekleri, tür spesifik primer çiftleri kullanılarak muhtemel türler *M. ovipneumoniae*, *M. mycoides* subsp. *capri*, *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae*, *M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. agalactiae* ve *M. arginini* açısından PCR tekniği ile test edildi. Sadece kültür-PCR ile beş örnek (%5) *M. mycoides* subsp. *capri* yönünden pozitif olarak değerlendirilirken, hem direkt hem de kültür -PCR tekniklerinde araştırılan diğer mikoplazma türleriyle ilişkili pozitif sonuç elde edilmedi ve hepsi negatif olarak değerlendirildi. Çalışmada kültür-PCR tekniğinin etkeni saptamada dokudan direkt PCR tekniğine göre daha avantajlı olduğu görüldü. Sonuç olarak bölgedeki pnömoni vakalarında etiyolojik olarak *M. mycoides* subsp. *capri*’nin rolü olduğu rolü olduğu kanısına varıldı.

ANAHTAR KELİMELELER: Akciğer, Koyun, Mikoplazma, Pnömoni, PCR.

ABSTRACT

MASTER THESIS

MOLECULAR INVESTIGATION OF MYCOPLASMA SPECIES IN SHEEP LUNGS WITH PNEUMONIA

HABİP SACILIK

**HARRAN UNIVERSITY
RADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
DEPARTMENT OF VETERINARY MICROBIOLOY**

Thesis Supervisor: Prof. Dr. OKTAY KESKİN

Year: 2025, Page : 35

In this study, it was aimed to investigate the presence of *Mycoplasma* species in macroscopically detected pneumonia lesions in the lungs of sheep slaughtered in Şanlıurfa slaughterhouse by molecular techniques. For this purpose, a total of 100 lung samples were taken from 10 different flocks with macroscopic lesions in their lungs after slaughter in the slaughterhouse in Siverek region. The samples were brought to Harran University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology Laboratory in cold chain and two serial samples were taken from the samples that were evaluated as pneumonia, one for DNA extraction from tissue to be used in direct PCR and the other for examination by culture-PCR method. DNA was isolated from the tissue samples and also from the cultured media. The DNA samples were tested for the possible species *M. ovipneumoniae*, *M. mycoides* subsp. *capri*, *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae*, *M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. agalactiae* and *M. arginini* by PCR using species-specific primer pairs. Five samples (5%) were positive for *M. mycoides* subsp. *capri* by culture-PCR only, while no positive results were obtained for the other *mycoplasma species* investigated by both direct and culture-PCR techniques and all were negative. In the study, culture-PCR technique was found to be more advantageous than direct PCR technique in detecting the causative agent. In conclusion, *M. mycoides* subsp. *capri* were the etiologic agent in pneumonia cases in the region.

KEYWORDS: Lung, Mycoplasma, Pneumonia, PCR, Sheep.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Numune alınan ve makroskopik olarak pnömoni bulguları görülen akciğer örnekleri	12
Şekil 4.1. <i>M. mycoides subsp. capri</i> -spesifik 195 bp PCR amplikonlarının agar jel (%1.5) elektroforez görüntüsü. 2 ve 11 pozitif kontrol, 3 ve 10 Negatif kontrol, 8 100 bp DNA ladder, 1, 4, 9, 12 ve 13 pozitif bulunan örnekler, 5, 6, 7 ve 14 negatif örnekler	18

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada araştırılan gen bölgelerinin tespiti için kullanılan primerler.	15
---	----

SİMGELER

%: Yüzde

&: Ve

° : °C Sıcaklık (Santigrad derece)

μ : Mikro

KISALTMALAR

bp : Base pairs

CCPP : Contagious Caprine Pleuropneumonia

dk : Dakika

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

g : Relative Centrifuge Force

Mccp : *Mycoplasma capricolum subsp. capripneumoniae*

MgCl₂ : Magnezyum klorür

mL : Mililitre

mM : Milimolar

nm : Nanometre

PBS : Phosphate Buffered Saline

PCR : Polymerase Chain Reaction

pH : Power of Hydrogen

PI3V : Parainfluenza-3 virüsü

Pmol : Pikomol

PPLO : Pleuro Pneumonia Like Organism

RSV : Respiratuar Sinsityal Virüs

s : Saniye

SDS-PAGE : Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi

TAE : Tris Acetate EDTA

Taq : Thermits aquaticus

V : Volt

WOAH : World Organisation for Animal Health

µg : mikrogram

µL : Mikrolitre

1. GİRİŞ

Türkiye'nin coğrafi yapısı, iklim koşulları ve sosyoekonomik yapısı, küçükbaş hayvan yetiştiriciliğini oldukça elverişli kılmaktadır. Küçükbaş hayvan yetiştiriciliği, diğer hayvancılık türlerine göre maddi kazanç açısından daha avantajlı olup, aynı zamanda daha kolay bir yetiştiricilik süreci sunmaktadır. Özellikle keçiler, tarıma ve diğer ruminant yetiştiricilik faaliyetlerine uygun olmayan arazileri, makilik ve kayalık bölgelerini daha etkili bir şekilde değerlendirme kapasitesine sahiptirler (Rainey ve ark., 2015).

Koyun yetiştiriciliği, hem ülkemizde hem de dünya genelinde ekonomik açıdan büyük bir öneme sahiptir. Türkiye'nin coğrafi şartları ve zengin bitki örtüsü, koyun yetiştiriciliği için ideal bir ortam sunmaktadır. Koyunlar, et, yün ve süt gibi birçok yönden değerli ürünler sağlayarak çiftçilere çeşitli gelir kaynakları sunmaktadır. Bu hayvanlar, uygun olmayan mera alanları ve zorlu iklim koşullarına dahi kolaylıkla uyum sağlayabilme yetenekleri ile bilinir. Koyun yetiştiriciliği, yeni iş kurma aşamasında düşük maliyetlerle başlanabilen bir sektördür. Ayrıca, koyunların yüksek oranda yemden yararlanabilme yetenekleri ve bakım-beslenme ihtiyaçlarının ineklere göre daha az olması, çiftçiler için çekici kılan faktörler arasındadır. Koyun yetiştiriciliği, sadece ekonomik değil, aynı zamanda çevresel ve sürdürülebilir tarım uygulamalarına da katkı sağlamaktadır. Bu nedenle, koyun yetiştiriciliği, tarımsal faaliyetlerde çeşitlilik arayan girişimciler tarafından sıklıkla tercih edilmektedir. (Kaymakçı ve ark., 2000; Çolpan, 2008; Günaydın, 2009).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Akciğerler, metabolik faaliyetler için gerekli olan enerjinin üretilmesi amacıyla kullanılacak oksijeni atmosferden vücuda alarak kan dolaşımına taşımak ve metabolik faaliyetlerin sonucunda oluşan karbondioksiti vücuttan uzaklaştırmakla görevli temel organdır (Guyton, A.C. ve Hall, J.E. 2007; Parent, 2015). Akciğerlerin geniş yüzey alanına sahip olması, fizyolojik görevi olan gaz alışverişi için kritik bir öneme sahiptir. Ancak bu durum, aynı zamanda atmosferde bulunan mikroorganizmalar, alerjenler, ozon, azot oksit, azot dioksit ve endüstriyel kaynaklardan salınan partiküler maddelere maruziyetin artmasına da neden olmaktadır (Parent, 2015). Akciğerler, içerdikleri savunma mekanizmaları sayesinde organizma için zararlı olan çeşitli etkenleri hızla uzaklaştırarak hastalık oluşumunu önleyebilmektedir. Doğuştan gelen lokal savunma sistemleri olmasına rağmen, çeşitli çevresel stres faktörlerine karşı, özellikle sütten erken kesme, yetersiz yem, uygun olmayan barınma koşulları ve iklim değişikliği gibi etkenlere oldukça duyarlıdır. Solunan ortamdaki ani değişiklikler, lokal savunmayı baskılayabilir ve bu durum akciğerleri infeksiyöz mikroorganizmalara (bakteri, mikoplazma, virüs ve mantarlar) karşı daha duyarlı hale getirebilir (Dağ ve ark., 2018; Dar ve ark., 2014; Kıran, 1990; Oruc, 2006).

Pnömoniye neden olan birçok patojenik bakteri türü bulunmaktadır. Pnömonili akciğerlerden en sık *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma* spp., *Escherichia coli*, *Actinomyces pyogenes*, *Streptococcus* spp. ve *Staphylococcus* spp. bakterileri izole edilmiştir (Azizi ve ark., 2013; Gilmour ve ark. 1982; Kıran ve ark., 1993; Oruc, 2006).

Küçük ruminantlarda mikoplazmal pnömonilerin etiyolojik ajanları arasında birçok mikoplazma türü bulunmaktadır. Bunlar arasında *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC, *M. mycoides* subsp. *capri*, *M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae*, *M. arginini*, *M. agalactiae* ve *M. ovipneumoniae* gibi türler yer almaktadır. Bu türler, küçük ruminantlarda solunum yolu infeksiyonlarına ve pnömoniye neden olabilirler ve sağlık sorunlarına yol açabilirler (Adehan ve ark., 2006; Ikheloa ve ark., 2004; Nicholas ve ark., 2008, Respiratory diseases of small ruminants).

Mikoplazmal infeksiyonlar, özellikle koyun ve keçilerde, ciddi ekonomik kayıplara neden olabilir. Bu infeksiyonlar genellikle zayıflama sonucu karkas ağırlığının düşük olması ve infertilite gibi sorunlara yol açabilir. Ayrıca,

mikopazmaların koyun ve keçilerde pnömoni ve plöropnömoni gibi solunum yolu hastalıklarını tetikleyebildiği bilinmektedir. Bu tür infeksiyonlar hayvanların genel sağlığını olumsuz yönde etkileyebilir ve üretim verimliliğini düşürebilir. Mikoplazmalar MAKePS sendromuna (mastitis, artritis, keratokonjunktivitis, pnömoni ve septisemi klinik belirtilerinin bir arada görülmesi) neden olur (Kumar ve ark., 2011; Thiaucourt ve Bölske, 1996).

Genellikle infeksiyonlar, duyarlı bireyler arasında doğrudan temas veya infekte olmuş hayvanın vücut sıvılarıyla temas yoluyla yayılır. Ağız, burun ve göz akıntıları ile genital salgılar, infeksiyonların yayılmasında önemli rol oynar. Mikoplazmalar, tipik olarak sağlıklı görünen taşıyıcı hayvanların aracılığıyla yayılır. Bu durumda hayvanlar infekte olmuş olabilir ancak belirgin semptomlar göstermeyebilir. Bu taşıyıcılar, infeksiyonu bulaştırabilir ve yayılmasına katkıda bulunabilirler. Bu nedenle, mikoplazmaların kontrolü ve infeksiyonun yayılmasının önlenmesi, sağlıklı sürü yönetimi ve hijyen uygulamalarıyla yakından ilişkilidir (Kumar ve ark., 2011).

Küçük ruminantlarda, özellikle kuzular ve oğlaklar arasında, mikoplazmaların neden olduğu pnömoni ve plöropnömoni olayları önemli bir sağlık sorunudur. Bu olaylar genellikle mikoplazma infeksiyonları tek başına veya diğer patojenlerle birlikte ortaya çıkabilir. Yetiştirme yapılan işletmenin fiziki koşulları, alınan koruyucu tedbirler, bakım ve besleme şartları ile çevresel faktörler, kuzu ve oğlaklardaki pnömoni vakalarının sıklığını ve şiddetini etkileyebilir. Dünya genelinde bu tür olaylara sıkça rastlanmaktadır ve morbidite (hastalığa yakalananların oranı) ve mortalite (ölüm oranı) oldukça yüksek olabilir (DaMassa ve ark., 1987; Hernandez ve ark., 2006; Nicholas, 2002).

Koyunlardaki mikoplazma pnömonileri genellikle, subklinik bronkointerstisyel pnömoniye neden olan *M. ovipneumoniae*'den kaynaklanır. Bu etkenin akciğerleri *Mannheimia haemolytica* ve Parainfluenza-3 virüsüne duyarlı hale getirdiği düşünülmektedir (Nicholas ve ark., 2008, Ovine mycoplasmal infections). *M. arginini*, koyun ve keçilerde kendi başına önemli bir patojen olarak etki gösterirken, *Mannheimia haemolytica*'nın infeksiyona dahil olması akciğerlerdeki patolojik hasarın artmasına neden olabilir (Lin ve ark., 2008; Nicholas ve ark., 2008 Ovine mycoplasmal infections). Hasta koyun ve kuzuların solunum mukozasından ve akciğerlerinden *M. agalactiae*, *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae*, *M. mycoides* subsp. *capri*, *M. arginini* ve *M. capricolum* subsp. *capricolum* izole edilmiştir (Kılıc ve ark., 2013). Mikoplazma salgınları,

özellikle pazarda satılan kuzularda özellikle yaz aylarında yüksek sıcaklığa maruz kalan hayvanlarda meydana gelmektedir. Genç kuzularda akut hastalık belirtileri gözlenirken, yetişkinlerde genellikle kronik bir infeksiyon şekillenir (Bell, 2008). İnfeksiyon, kuzularda gelişme geriliği yanında değişken derecelerde mortaliteye de neden olmaktadır. Ölüm, plörit, pulmoner apse ve akut fibrinli bronkopnömoni gibi komplikasyonlar sebebiyle meydana gelmektedir (Kılıc ve ark., 2013). Makroskobik olarak; kranial loblarda kırmızımsı atelektazik alanlar, hepatize alanlar ve bu alanları örten plörada fibrin, kaudal loblarda interstisyel pnömoni bulguları gözlemlenebilir. Lezyonların kesit yüzeyinden ödem sıvısı sızabilir ve ayrıca gri-beyaz nodüller bulunabilir. Mikroskobik olarak ise bronkointerstisyel pnömoni bulguları dikkat çeker (Ettorre ve ark., 2007; Kılıc ve ark., 2013; Lin ve ark., 2008). Koyunlar, pulmoner mycoplasmozlara keçilerden daha az duyarlıdır. Bu türde, mikoplazma infeksiyonlarının söz konusu olduğu durumlarda agalaksi en belirgin semptomdur. *M. agalactiae* en sık izole edilen mikoplazmadır ancak *M. mycoides* subsp. *mycoides* LC veya *M. capricolum* subsp. *capricolum* da bildirilmiştir. *M. agalactiae* bir çalışmada solunum yollarında da bulunmuştur (Taoudi ve ark., 1987).

2.1. ETİYOLOJİ

Mikoplazma, Tenericutes şubesinde yer alan Mollicutes (Latince "mollis"=yumuşak, "cutis"=deri) sınıfının Mycoplasmatales dizisinde konumlanan Mycoplasmataceae familyasında bulunan bir cinsidir. İlk olarak sığırların Pleuro Pneumonia olgularından izole edilen etken, Pleuro Pneumonia Like Organism (PPLO) olarak adlandırılmış ve 1929 yılında mikoplazma olarak resmi bir isim almıştır. Bu mikroorganizma, Asterecoccus ve Anulomyces gibi adlarla da anılmıştır (Aydın ve ark. 2006; Güllü Yücestepe, 2023). Mollicutes sınıfında, hayvanlarda mikoplazma, üreaplasma, acholeplasma, anaeroplasma ve asteroplasma cinsleri vardır. Özellikle mikoplazma ve üreaplasma hayvanlarda daha patojeniktir (Ruffin, 2001).

Mikoplazma türleri, peptidoglikan sentezleyemedikleri için hücre duvarına sahip değildirler. Bunun yerine, üç katmanlı, lipidlerden (fosfolipid, glikolipid, lipoglikan, steroller), karbonhidrat ve proteinlerden oluşan esnek bir unit membranları bulunmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle pleomorfiktirler, yani değişken morfolojik yapıya sahiptirler. Hücre duvarı sentezini engelleyen penisilin ve türevlerine karşı dirençlidirler. mikoplazmalar hareketsiz, kapsülsüz ve sporsuz

mikroorganizmalardır ve prokaryotik hücreler içinde en küçük olanlardır. Genellikle hareketsiz olsalar da, bazı türlerde kayma hareketi gösterebilirler. Hücre çapları 300-800 nm arasında değişir ve hücre duvarı olmaması nedeniyle ultra filtrasyona uygun hale gelirler. Gram negatif özellik göstermelerine rağmen, anilin boylarıyla zor boyanırlar. Casteneda, Macchiavello ve Giemsa gibi özel boyama yöntemleri kullanılarak boyama işlemi gerçekleştirilir (Rainey ve ark., 2015; Aydın ve ark., 2006; Quinn ve ark., 2018). Mikoplazma etkenini izole etmek için kullanılacak besiyerine, kolesterol gereksiniminden dolayı %20 at serumu eklenmeli ve ayrıca üremenin artırılması için maya ekstraktı ile DNA veya diğer nükleotidler katılmalıdır. Gram pozitif bakteri kontaminasyonunu önlemek için penisilin G, gram negatif bakteri ve mantarların üremesini engellemek için ise thallium asetat ilave edilmelidir. Optimal pH değeri 7.2-7.8 olmalıdır. Herhangi bir pH değişikliği, mikoplazma'ların üremesini etkileyebilir. Şeker fermentasyonu nedeniyle pH'nın 6.5'in altına düşmesi veya pH'nın 8.0'ın üstüne çıkması, etkenin üremesini sınırlayabilir ve hatta ölümüne neden olabilir (Rainey ve ark., 2015; Aydın ve ark., 2006; Nicholas ve ark., 2008 Mycoplasma diseases of ruminants; Quin ve ark., 2018). Mikoplazma kolonilerini, penisilin ve benzeri maddelere maruz kalarak hücre duvarı sentezi engellenmiş olan bakterilerin oluşturduğu L formlarından ayırmak için Dienes boyama yöntemi kullanılabilir. Dienes boyası ile boyanmış L formu kolonileri 15 dakika içinde dekolore olurken, mikoplazma kolonileri dekolore olmaz. Antibakteriyel madde içermeyen bir ortamda ise L formu kolonileri, ait oldukları etkenin koloni morfolojisini gösterirken, mikoplazma kolonileri görünümlerini korurlar. Mikoplazma etkenleri embriyolu yumurtalarda ve hücre kültürlerinde de üretilir (Aydın ve ark., 2006).

2.1.1. *M. arginini*

M. arginini, koyun ve keçilerde çeşitli organ ve bölgelerden izole edilebilen bir türdür (Jones ve ark., 1983). Solunum yolu hastalığı şüphesi ile ölen küçükbaş hayvanların birçoğunda genellikle tek başına izole edilen bir mikoplazma etkenidir (Fernández ve ark., 2016; Olaogun ve ark. 2015). Bazı keratokonjunktivitisi koyunlardan da izole edilmiştir (Leach, 1970). Koyunlarda pnömoniye bağlı olarak akciğer, ağız ve yemek borusunda bulgular oluşmuştur. Ayrıca, *M. arginini* keçilerin eklemlerinden izole edilmiş ve genital organlar, göz ve kulak gibi diğer organlardan da tespit edilmiştir (Fernándezve ark., 2016). *M. arginini*'ye immun yanıt çabuk oluşur ve mikoplazmaları solunum yollarından temizler (Sheikh-Omar ve Muttalib, 1985). Genel olarak *M. arginini*, infeksiyonu izleyen yangısal yanıt sonucunda elimine edilmektedir. Bu etken, erken dönemde elimine edilse de, infeksiyonun

akciğerlerde ilk lezyon oluşumunu tetiklediği ve Pasteurella gibi diğer patojenlerin akciğerlere yerleşmesine olanak tanıdığı düşünülmektedir (Buddle ve ark., 1990). Bununla beraber *M. arginini* ile deneysel olarak intratrakeal, deri altı ve kas içi yollarla yapılan inokulasyonlarda solunum hastalığı geliştirilememiş ve bu nedenle de keçiler için patojen olmadığı düşünülmektedir (Abubakr ve ark., 1981).

2.1.2. *M. capricollum* subsp. *capripneumoniae* (CCPP)

Bulaşıcı keçi pleuropnömonisi (Contagious Caprine Pleuropneumonia - CCPP), keçilerde önemli bir solunum yolu hastalığıdır. Hastalığın ilk klinik tanımı, 1873 yılında Cezayir'de meydana gelen ve büyük zarar veren keçi hastalığı olarak rapor edilmiştir. CCPP (Keçi ciğer ağrısı) , *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae* adlı mikoplazma türü tarafından neden olunan bir hastalıktır (Lorenzon ve ark., 2002; Thomas, 1873).

M. capricolum subsp. *capripneumoniae*, ruminantları enfekte eden ve çoklu fenotipik veya genomik özellikleri paylaşan altı mikoplazma alt türünden oluşan mycoides "kümesi"ne aittir (Cottew ve ark., 1987).

Mycoides alt grubu	Capricolum alt grubu
<i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> biotype SC	<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i>
<i>M. mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> biotype LC	<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capripneumoniae</i>
<i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i>	<i>M. sp. leachii</i> 7. Grubu

Keçi Ciğer Ağrısı, keçilerde yüksek morbidite(%100) ve mortalite(%80) ile seyreder (Cordy ve ark., 1995). Keçi ciğer ağrısı, özellikle keçilerde patojeniktir ancak koyunlarda, sığırlarda ve alp keçilerinde de görülebilir. *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae* tarafından neden olan bu hastalık, özellikle Orta Doğu, Afrika ve Asya'daki keçi yetiştiriciliği yapan ülkelerde ciddi ekonomik kayıplara neden olur. Hastalık, genellikle solunum yoluyla bulaşır ve özellikle genç hayvanlarda ölümcül olabilir (WOAH, 2014). Gelişmiş ülkelere, keçi ciğer ağrısı gibi bulaşıcı hastalıklara sahip hayvanlar genellikle itlaf edilir. Bu önlem, hastalığın yayılmasını önlemek ve hayvan sağlığını korumak için alınır. Bu tür adımlar, hastalığın kontrol

altına alınmasına ve ekonomik kayıpların en aza indirilmesine yardımcı olabilir (Parray ve ark., 2019). Yaygın olarak görülen semptomlar; yüksek ateş (41-43°C) ancak hayvanlar beslenmeye ve geviş getirmeye devam eder, depresyon, yürümede isteksizlik, nefes darlığı, uyuşukluk, beslenmede yetersizlik, ağrılı ağzı açık şekilde soluk alıp verme, şiddetli öksürük, lifli tükürük, burun akıntısı, homurdanma, son aşamalarda hayvanlar hareket edemez ve bacakları birbirinden ayrı durur, boyunları gergindir, ağızlarından sürekli salyalar akar ve burunları mukopurulent bir akıntıyla tıkanır. 7-10 gün içinde ölüm şekillenir, gebe keçilerde abort sık görülür (WOAH, 2014).

Akciğerlerde görülen histopatolojik değişikliklerin en belirginini akut diffüz interstisyel pnömonidir (Cordy, 1984). *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae*'nin neden olduğu keçi ciğer ağrısında alveollerde yüksek proteinli ödem sıvısı birikimi görülebilir. Ayrıca, alveoller ve alveol duvarında monosit-makrofaj birikimi de saptanabilir. Bu durum, genellikle pnömoniye yol açabilir. Hastalık ayrıca akut fibrinopurulent artrit ve vasküler tromboz gibi komplikasyonlarla ilişkilendirilebilir. Trombüsler, akciğer, adrenal bezler, dalak, kalp, meninks ve karaciğer gibi organlarda gözlemlenebilir. Bu belirtiler, hastalığın ciddiyetini ve etkilerini gösteren önemli bulgulardır (DaMassa ve ark., 1983).

2.1.3. *M. mycoides* subsp. *capri*

Bulaşıcı keçi pleuropnömonisi, *M. capricolum* subsp. *capri*'nin neden olduğu bir hastalıktır. Bu hastalıkta, infekte hayvanlarda yüksek ateş ve iştahsızlık gibi belirtiler görülebilir. Hastalığın büyük lezyonları genellikle akciğer, pleura ve perikardla sınırlıdır. Akciğer loblarında farklı derecelerde hepatizasyon (akciğer dokusunun konsolidasyonu) görülebilir. Akciğer genellikle fibrinle kaplıdır ve aşırı göğüs sıvısı ve fibrinöz perikardit yaygındır. Özellikle bronşial, mediastinal, mandibular ve retrofarengeal lenf düğümleri genişlemiş, ödemli ve hemorajiktir. Histopatolojik olarak akciğer ödemi, akut purulent pleuritis (iltihaplı plevra zarının akut iltihabı) ve akut piyogenik bronkopnömoni (bronşların ve akciğer dokusunun akut iltihabı) görülebilir. Bu belirtiler, hastalığın patolojik ve klinik özelliklerini gösteren önemli bulgulardır (Jones ve Wood, 1988).

2.1.4. *M. mycoides* subsp. *mycoides*

Bulaşıcı sığır pleuropnömonisinin etkeni *M. mycoides* subsp. *mycoides*'tir ve sığırlarda oldukça yıkıcı bir hastalık oluşturabilir. Bu hastalık sığırlarda eradike edilmiş olsa da, halen bazı bölgelerde görülebilmektedir. Keçi kökenli mikoplazma

türleri, sığırlardaki hastalıkla serolojik olarak ayırt edilemez ve keçilerde ciddi hastalıklara neden olabilir.

M. mycoides subsp. *mycoides* genellikle morfolojik ve kültürel özelliklere dayanarak büyük koloni ve küçük koloni tiplerine ayrılır. Keçi biyotipleri genellikle sığır biyotiplerinden daha sağlam kültürel özelliklere sahiptir. Bu biyotipler, agar üzerinde daha büyük bir çapa ulaşabilir, sıvı içinde daha kapsamlı bir şekilde büyüyebilir, serumu ve kazeini daha iyi sindirebilir ve 45°C'de daha uzun süre hayatta kalabilir (Cottew ve Yeats, 1978).

2.1.5. *M. agalactiae*

Hastalığın etken maddesi *M. agalactiae*, 1923 yılında Bridre ve Donatien tarafından bilinen ikinci mikoplazma türü olarak izole edilmiştir. İlk olarak 1931'de Wroblewski tarafından *Anulomyces agalaxie* olarak adlandırılmış ancak 1957'de yeni kurulan mikoplazma taksonomisine göre adı Freund tarafından *M. agalactiae* olarak değiştirilmiştir. Doğal koşullar altında, *M. agalactiae* için en yaygın organizmaya giriş yolları ağız, solunum veya meme yollarıdır. Ağız yoluyla enfekte olmuş hayvanlarda, birincil yerleşme ve ardından istila yerinin ince bağırsak olduğu varsayılır. Bu varsayım, *M. agalactiae*'nin deneysel infeksiyondan sonra rektal sürüntülerden ve hayvanların ince bağırsaklarından izole edildiği çalışmalarda doğrulanmıştır (Lambert, 1987; Migliore ve ark., 2024).

Süt üretiminde düşüş veya tam kayıp anlamına gelen 'agalactia' olarak adlandırılmasına rağmen, *M. agalactiae*'nin neden olduğu hastalık, klinik belirtiler açısından süt veren inekler veya meme ve meme bezi ile sınırlı değildir. Hastalık genellikle mastitis (meme iltihabı), artritis (eklem iltihabı), keratokonjunktivitis (göz iltihabı), pnömoni (akciğer iltihabı) ve septisemi (kan zehirlenmesi) gibi MAKePS kısaltması ile ifade edilen belirtiler gösterebilir. (Thiaucourt ve Bölske, 1996). *M. agalactiae*'nin neden olduğu hastalık, ilk olarak süt veriminde düşüşe yol açar ve daha sonra morbidite (hastalıklılık) ve mortalitede (ölüm oranı) artışa neden olabilir. Bu hastalık, akut formda olduğu kadar kronik formda da hayvan refahı için ciddi bir tehdit olarak kabul edilir. Klinik belirtiler spesifik olmadığından, *M. agalactiae* salgını laboratuvar testleri yapılmadan doğrulanamaz. *Agalactiae* infeksiyonunun ana ajanı *M. agalactiae* iken, üç alt etken daha vardır: *M. mycoides* subsp. *capri*, *M. capricolum* subsp. *capricolum* ve *M. putrefaciens* (Nicholas ve ark., 2008 Contagious agalactia). Pnömoni yetişkinlerde daha az sıklıkla görülür (Bergonier ve ark., 1997).

2.1.6. *M. ovipneumoniae*

M. ovipneumoniae, koyunlarda solunum yolu hastalığına neden olan önemli mikoplazmalardan biri olarak kabul edilir. Bu mikroorganizma, kronik hastalıkların etiolojisinde önemli bir rol oynar. Koyunlarda solunum yolu hastalıklarının yanı sıra, *M. ovipneumoniae*'nin infeksiyonları genellikle hafif seyirli olabilir ancak kronikleşebilir ve hayvanlarda sürekli olarak solunum sorunlarına neden olabilir. Bu nedenle, koyun yetiştiriciliğinde bu mikroorganizmanın kontrolü önemli bir konudur (Nicholas ve ark., 2008 Ovine mycoplasma infections). Mikoplazma infeksiyonu ile ilişkilendirilen dolaylı ekonomik kayıplar ve infertilite, yüksek morbidite ve bazen mortalite ile ilişkilidir. Bu infeksiyonlar genellikle akut/subakut veya kronik pnömoniye neden olabilir. Hastalıklı veya taşıyıcı hayvanlardan salgılanan salgılar, yakın temas halindeki hayvanlardan infekte damlacıkların solunması yoluyla hastalığın sürüler arasında sürmesinde ve yayılmasında önemli bir role sahiptir. Bu nedenle, mikoplazma infeksiyonlarıyla mücadelede önleyici tedbirler almak ve hastalığın kontrol altına alınması büyük önem taşır (Hernandez ve ark. 2006). *M. ovipneumoniae* koyunlarda atipik pnömoni için etiyolojik bir ajan olarak tespit edilmiştir (Jones ve ark. 1983). Nekropsi bulgularında, yaygın alveoler kanama ile birlikte yaygın hemorajik pnömoni görülebilir. Akciğerde belirgin pleurit, sarımsı sıvının plevral efüzyonu ile gri veya kırmızı konsolidasyon alanları ve etkilenen yüzeylerin kesitlerinde hepatizasyon ile ince granüler doku ortaya çıkabilir (Awan ve ark., 2010).

2.2. TEŞHİS

Mikoplazma infeksiyonların teşhis edilmesinde genellikle direkt ve indirekt yöntemler kullanılmaktadır. Teşhiste klasik olarak kullanılan yöntemler direkt (konvansiyonel) yöntemler; etken izolasyonu ve identifikasyonuna, klinik ve nekropsi bulguları, dokularda etkene ait antijenlerin gösterilmesi için immunohistokimyasal ve serolojik testlerdir (Margineda ve ark., 2017; Nader ve ark., 2019). *Mycoplasma* spp. için klinik bulguların spesifik olmaması, bu enfeksiyonların izolasyon ve identifikasyonu için laboratuvar teşhisini zorunlu kılar (Nicholas ve Ayling, 2003). Mikoplazmaların laboratuvar tanısı için, infeksiyondan şüphelenilen hayvanlardan alınacak örneklerin dikkatlice seçilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, antibiyotik tedavisi uygulanmamış, canlı veya agoni durumundaki hayvanlardan, ölümlerinden hemen sonra alınmış ve dondurulmuş organ, doku ve solunum yolu eksudatlarından svab örnekleri alınabilir. Mikoplazma infeksiyonlarında; kültür yönteminin kullanılması kesin teşhis için kabul görmesine rağmen, bu metodun çok

uzun zaman alması, kontaminasyon riskinin oluşması ve etkenin izolasyonu için canlı olması gerekliliği bu metodun dezavantajları olarak belirtilmiştir. Ayrıca etkenlerin hassasiyetinden dolayı numunenin alınması ve laboratuvara ulaştırılması özel hassasiyet gerektirir (Faburay ve McVey, 2022). Kültürde pozitif sonuçların saptanması genelde 4 ila 7 gün sürmesine rağmen, kesin negatif sonuçların belirlenmesi için 30 günlük bir periyodun geçmesi gerekmektedir (Esendal, 2002; Salisch ve ark. 1998). Ayrıca, mikoplasma türlerinin embriyolu yumurta ve hücre kültürü gibi in vivo ortamlarda üretimi de mümkündür (Nicholas ve ark., 2008, Bovine respiratory disease). Etken izolasyonunun güç olduğu yüksek dozda antibiyotik tedavisi yapılan ve kronik enfeksiyon durumlarında genellikle serolojik testler kullanışlıdır (Nicholas ve Ayling, 2003). Mikoplazmaya karşı antikorların tespiti için ELISA'nın oldukça spesifik ve hassas olduğu gösterilmiştir (Wawegama ve Browning, 2017). Bu klasik yöntemler her zaman için başarılı sonuçlar vermediğinden, etkenin genetik materyallerini saptayan PCR gibi moleküler teşhis metodları daha sıklıkla kullanılmaktadır (Esendal, 2002; WOA, 2018).

Mikoplazma türlerini klasik kültür yoluyla örneklerden tanımlamak için farklı ülkelerde birkaç geleneksel PCR yöntemi geliştirilmiştir. Tanı için PCR testleri birçok laboratuvar da rutin olarak kullanılmaktadır ve son derece hassastır. Konvansiyonel kültür metotlarıyla karşılaştırıldığında Mikoplazmanın PCR ile identifikasyonu daha kısa sürede gerçekleştirilmektedir. PCR testleri yapılırken konservatif ve spesifik gen sekanslarının elde edilmesi amaçlanmaktadır. Klinik numuneler üzerinde gerçekleştirildiklerinde hızlı bir erken uyarı sistemi sağlayabilir ve sonuçlar pozitif çıktığında tam bir araştırma yapılmasına olanak tanır. PCR, kültür, ELISA, nükleik asit hibridizasyon, sodyum dodesil sülfat– poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) gibi çeşitli tanı yöntemleri karşılaştırıldığında PCR'ın daha hassas ve spesifik bir yöntem olduğu belirtilmektedir (Akan ve ark., 2014; Önat, 2011).

Bu tez çalışmasında pnömonili koyun akciğerlerinden mikoplazma türlerinin moleküler olarak PCR tekniği ile araştırılması amaçlandı.

Mycoplasma türlerini klasik kültür yoluyla örneklerden tanımlamak için farklı ülkelerde birkaç geleneksel PCR yöntemi geliştirilmiştir. Tanı için PCR testleri birçok laboratuvar da rutin olarak kullanılmaktadır ve son derece hassastır. Konvansiyonel kültür metotlarıyla karşılaştırıldığında Mikoplazmanın PCR ile identifikasyonu daha kısa sürede gerçekleştirilmektedir. PCR testleri yapılırken konservatif ve spesifik gen sekanslarının elde edilmesi amaçlanmaktadır. Klinik

numuneler üzerinde gerçekleştirildiklerinde hızlı bir erken uyarı sistemi sağlayabilir ve sonuçlar pozitif çıktığında tam bir araştırma yapılmasına olanak tanır. PCR, kültür, ELISA, nükleik asit hibridizasyon, sodyum dodesil sülfat– poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) gibi çeşitli tanı yöntemleri karşılaştırıldığında PCR’ın daha hassas ve spesifik bir yöntem olduğu belirtilmektedir (Akan ve ark., 2014; Önat, 2011).

Bu tez çalışmasında pnömonili koyun ve keçilerin akciğerleirnden izole edilecek olan mikoplazma türlerinin moleküler olarak tiplendirilmesi amaçlandı.

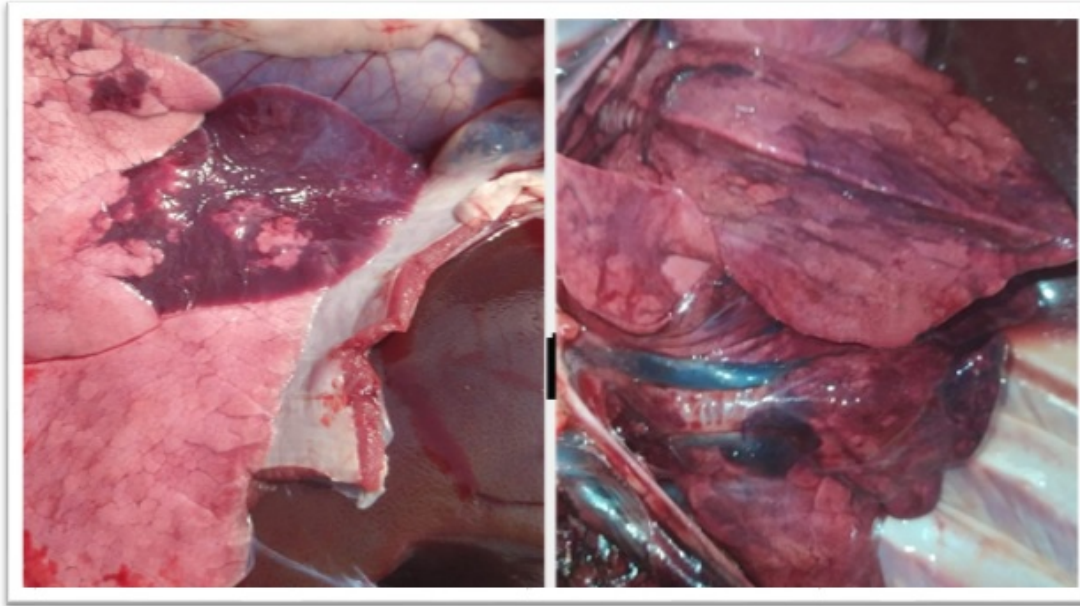
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

Bu araştırma konusunun etik kurul denetimine tabi olmadığı Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 10/03/2023 tarih ve 2023/001-01 ile 24/12/2024 tarih ve 2024/008/01-10 nolu kararında belirtilmiştir.

3.1.1. Doku Örnekleri

Bu çalışmada Siverek bölgesinden, 2023 yılı Nisan-Haziran aylarında mezbahanedeki kesim sonrasında akciğerlerinde makroskopik lezyonlar bulunan 10 farklı sürüden 10'ar akciğer olacak şekilde toplam 100 adet akciğer numunesi alındı. Soğuk zincirde Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarına getirildi.



Şekil 3.1. Numune alınan ve makroskopik olarak pnömoni bulguları görülen akciğer örnekleri

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri

Çalışmada dokulardan mikoplazma etkenlerinin kültüre edilmesi amacıyla Mycoplasma Broth (Himedia, Hindistan) kullanıldı.

Besiyerinin hazırlanması

A. Otoklavlanacak Kısım:

Mycoplasma Broth without crystal violet (PPLO Broth Base w/o CV, Himedia, India) 21 g

Distile su 700 ml

B. Membran Filtreden Geçirilecek Kısım:

At serumu (56°C’de 30 dakika inaktive edilmiş) 200 ml

Yeast extract (%25’lik solüsyon) 100 ml

Glikoz (0,5 g/ml’lik steril solüsyon) 20 ml

Fenol red (%1’lik solüsyon) 2 ml

Thallium acetate (%0,5) 5 ml

Penisilin G (200.000 IU/ml) 2,5 ml

A kısmı 121°C’de 15 dk otoklavlanıp steril edildi. Soğutulduktan sonra B kısmında belirtilen steril bileşenler aseptik olarak ilave edildi. Final pH 7.6’ya ayarlandı (WOAH, 2018; Tarım ve Orman Bakanlığı, 2014).

Sıvı besiyerleri steril vidalı kapaklı tüplere bölüştürüldü ve sterilite kontrolü için 1 gün süreyle 37 °C’de inkübe edildikten sonra, kontaminasyona bağlı olarak renk değişimi ve bulanıklık olup olmadığı kontrol edildi. Renk değişimi ve bulanıklık görülmeyen steril sıvı besiyerleri kullanılıncaya kadar +4 °C’de buzdolabında saklandı.

3.1.3. Moleküler Analiz Gereçleri

3.1.3.1. DNA İzolasyonu Gereçleri

Direkt akciğer doku örnekleri ve bu dokulardan sıvı besi yerinde yapılan kültürlerden DNA izolasyonu için steril 1,5 ml’lik DNase/RNase free mikrosantrifüj tüpleri (Isolab), mikrosantrifüj cihazı (Thermo Scientific-microCL 21R) ve vorteks

cihazı (Heidolph-Reax) kullanıldı. Kùltürlerden elde edilen DNA'lar kullanılıncaya kadar - 20°C'de muhafaza edildi.

3.1.3.2. PCR Amplifikasyonu Gereçleri

PCR amplifikasyonu Thermo Scientific-Arktik termal cyclers cihazı kullanılarak yapıldı. Amplifikasyonda uygun ortamı sağlamak için Taq DNA Polimeraz Enzimi (Thermo Scientific), 25 mM MgCl₂ (Thermo Scientific), 10X Taq PCR Solüsyonu (Thermo Scientific), 10 mM dNTP mix (Fermentas) ve PCR grade su (Ambion) kullanıldı. PCR için Tablo 3.1'de gösterilen primerler Sentebiolab firmasına sentezlettirilerek kullanıldı. Her bir primer ana stoğu µl de 100 pmol nükleotid zincir içerecek şekilde sulandırıldı. PCR için revers ve forward ana stoklar kullanıldı.

Çizelge 3.1. Çalışmada araştırılan gen bölgelerinin tespiti için kullanılan primerler.

Hedef Mikroorganizma	Kullanılan primerler	Amplikon boyutu (bp)	Referans
<i>M. mycoides</i> subsp. <i>capri</i>	P4-F: ACTGAGC AATTCCTCTT	195 bp	Kumar ve ark. 2011
	P6-R: TTAATAA GTCYTCTCTAT ATGAAT		
<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capripneumoniae</i>	capripneumoniae-F: ATCATTTTTA ATCCCTTAAG	318 bp	Çetinkaya ve ark. 2009
	Capripneumoniae-R: TACTATGAG TAATTATAATA TATGCAA		
<i>M. agalactiae</i>	Mag-F: CCTTTA GATTGGGATAG CGGATG	360 bp	Kumar ve ark. 2011
	Mag-R: CCGTCA AGGTAGCGTCA TTTCCTAC		
<i>M. ovipneumoniae</i>	ovipneumoniae-F: GGAACACCTCC TTTCTACGG	493 bp	Mousa ve ark. 2021
	ovipneumoniae-R: CCAAGGCATCC ACCAAATAC		
<i>M. arginini</i>	arginini-F: TTTG ACGGGGTTGTA ACATACGT	886 bp	Valsala ve ark. 2017
	arginini-R: CAGC TAATCCTAGGT GTAATTCGAG		
<i>M. capricolum</i> subsp. <i>capricolum</i>	MCCPLI-F: AGA CCCAAATAAGC CATCCA	1356 bp	Kumar ve ark. 2011
	MCCPLI-R: CTT		

TCACCGCTTGT TGAATG

3.1.3.3. Elektroforez gereçleri

Elektroforez jel düzeneği ve elektroforez tankı amplifiye PCR ürünlerinin yürütülmesi için (Thermo Scientific- EC300XL) kullanıldı. Elektroforez jel düzeneğinde uygun ortam şartlarını sağlamak için 10X TAE (Tris Asetat EDTA) solüsyonu (Fermentas), distile su ile 1X olacak şekilde sulandırıldı. Agaroz jel (Biomax), %1,5 oranında olacak şekilde hazırlandı. Oluşan bantların görüntülenmesi için agaroz içine 3 µl Ethidyum Bromür (Sigma) ilave edildi. PCR ürünleri jel görüntüleme sisteminde okutularak (Major Science- USA) değerlendirildi.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Makroskopik incelemeler

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarı'na getirilen akciğer doku örnekleri ilk olarak makroskopik incelemeden geçirildi. Pnömoni olarak değerlendirilen örneklerden steril olarak ikişer seri halinde alınan doku örneklerinden biri, dokudan DNA ekstraksiyonu ile mikoplazma varlığının PCR yöntemi ile teşhisi için incelenene kadar -20°C'de saklanırken, diğeri ise kültür yöntemi ile incelemeye alındı.

3.2.2. Dokudan DNA Ekstraksiyonu

Ticari olarak temin edilen PureLink Genomic DNA Mini Kits (Invitrogen by life technologies, ABD) kullanılarak dokudan DNA ekstraksiyonları gerçekleştirildi. Bu amaçla her bir örneğin lezyon bulunan bölgesinden alınan doku örneklerine kit protokolünde belirtilen işlemler uygulandı.

3.2.3. Kültür-PCR

Mikoplazma etkenlerinin kültüre edilmesi için akciğer numunelerinden uygun şekilde materyal alınarak steril havan içinde 1 ml PBS ve bir miktar steril kum ile ezildi ve sıvı kısım mikropipet ile çekilerek 9 ml mycoplasma broth ile karıştırıldı ve 37 °C'de 72 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda, daha sonra DNA ekstraksiyonu yapılması için 1 ml alınarak -20 C°'ye kaldırıldı (WOAH, 2014).

3.2.4. Kültürden DNA Ekstraksiyonu

Kültür işleminden sonra -20 °C'ye kaldırılan örnekler, oda ısısında çözdürülerek steril ependorf tüplerinde 14.000 g'de 4 °C'de 30 dakika süreyle santrifüj edildi. Üst sıvı dikkatlice uzaklaştırıldı ve pelet 25 µL ultra saf su ile süspanse edildi. Tüpler, 10 dk kaynatıldıktan sonra buz üzerinde soğumaya bırakıldı. Sonrasında 14.000 g de 5 dakika santrifüj edildi. DNA'nın bulunduğu supernatant kısım ayrı tüplere alındı. Elde edilen DNA'lar -20 °C'de PCR yapılıncaya kadar saklandı. (WOAH, 2014).

3.2.5. PCR Testi

Çalışmada araştırılan gen bölgelerinin saptanması için PCR reaksiyonu karışımı her bir tüp için toplam 25 µl olarak ayarlandı. Bu karışım Taq DNA polimeraz enziminden 0,25 µl, 25 mM MgCl₂'den 3 µl, 10X Taq PCR solüsyonundan 2,5 µl, 10 mM dNTP mix'ten 0,75 µl, 100 pmol olarak sulandırılan ve primerlerden ise 1 µl (10 pmol) revers ve forward ayrı ayrı olmak üzere kullanıldı. PCR suyundan 15,5 µl ve en son DNA templeytlardan 2 µl ilave edilerek son hacim 25 µl olacak şekilde PCR karışımları hazırlandı.

PCR reaksiyonu amplifikasyon için termal döngü cihazında 94°C'de 7 dakika başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 30 s denatürasyon, 53°C'de 30 s primer bağlanması, 72°C'de 60 s uzama aşaması, toplam 35 döngü ve son uzama aşaması 72°C'de 5 dk olarak yapıldı.

Testte araştırılan her bir tür için pozitif kontrol olarak, İstanbul Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü WOAH Mikoplazma Referans Laboratuvarından temin edilen pozitif DNA örnekleri kullanıldı.

3.2.6. PCR Ürünlerinin Görüntülenmesi

Elde edilen PCR ürünlerini görüntülemek amacıyla 10 µl DNA, 2 µl yükleme solüsyonu ile boyandı ve 5 µg/ml etidyum bromid içeren %1,5 agaroz jele yüklendi ve 90 V akımda 60 dakika boyunca elektroforez ile yürütüldükten sonra sonuçlar jel görüntüleme sisteminde değerlendirildi. Marker olarak 3000 bp DNA Ladder (Genaid, İngiltere) kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. PCR Bulguları

4.1.1. Direkt Dokudan PCR Bulguları

Direkt olarak akciğer dokularından elde edilen DNA örnekleri kullanılarak yapılan PCR testinden araştırılan altı etkene ait pozitif sonuç elde edilemedi.

4.1.2. Kültür-PCR Bulguları

Akciğer dokularından sıvı besi yerinen alınan örneklerin 72 saatlik inkubasyonu sonucunda 100 örnekte de üremeye bağlı renk değişimi gözlemlendi. Kültürlerden elde edilen DNA örneklerinin incelenmesi sonucunda 5 adet *M. mycoides* subsp. *capri* ile uyumlu bant görüldü (Şekil.4.1).



Şekil 4.1. *M. mycoides* subsp. *capri* -spesifik 195 bp PCR amplikonlarının agar jel (%1.5) elektroforez görüntüsü. 2 ve 11 pozitif kontrol, 3 ve 10 Negatif kontrol, 8 100 bp DNA ladder, 1, 4, 9, 12 ve 13 pozitif bulunan örnekler, 5, 6, 7 ve 14 negatif örnekler

5. TARTIŞMA

Mikoplazmaların neden olduğu pnömoni genellikle koyun ve keçi endüstrisinde gizli ancak büyük ekonomik kayıplara neden olur. Hastalık Afrika ve Asya'daki birçok ülkede yaygındır. Etkilenen hayvanlardaki klinik belirtiler arasında iştahsızlık, ateş ve nefes darlığı, polipne, öksürük ve burun akıntısı gibi solunum semptomları yer alır. Koyun ve keçilerde bulaşıcı agalaksiya öncelikle *M. agalactia* neden olduğu meme bezleri, eklemler, gözler ve daha az olarak da hem erkek hem de dişi hayvanlarda solunum sisteminin etkilendiği bir klinik tablo oluşturur. Bulgular arasında erişkinlerde mastitis, poliartitis, yavru atma ve pnömoni, yavruarda septisemiye ve pnömoniye bağlı yüksek kayıplar sayılabilir (Pooladgar, 2014). Ayrıca *M. ovipneumoniae*, *M. mycoides* kümesinin iki üyesi - *M. mycoides* subsp. *capri* (Mmc), *M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae* (Mccp) ve *M. arginini* de solunum yolu hastalığına neden olur. Diğer solunum yolu infeksiyonları ile benzerlikler nedeniyle doğru tanı koymak zor olabilir ve etkenin izole edilmesi genellikle zordur. Bununla birlikte, PCR gibi moleküler tekniklerin kullanılması, patojenlerin hızlı ve spesifik bir şekilde tanımlanmasına olanak sağlamaktadır.

M. mycoides subsp. *capri* (Mmc), küçük geviş getiren hayvanlarda en yüksek ekonomik kayıplara neden olan hastalıklar arasında yer alan bulaşıcı agalaksiyanın etiyolojik mikroorganizmalarından biridir. Göçmen ve ark. (2015), Bursa, Balıkesir, Çanakkale ve Edirne illerine ait koyun ve keçilerden toplanan 339 adet örneği bakteriyolojik ve moleküler yöntemlerle incelemişler ve *M. mycoides* subsp. *capri* tespit edememişlerdir. Karatekeli (2019), Isparta ve Afyonkarahisar yörelerinde bulaşıcı agalaksi hastalığını araştırmak için taradıkları 45.500 koyun ve keçiden aldığı 202 adet klinik örneklerinden *M. mycoides* subsp. *capri* izole edememişlerdir. Olaogun ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada, yedi küçük ruminant sürüsünden ve iki mezbahadan elde edilen toplam 1358 örnek PCR ve/veya kültürle mikoplazmalar açısından incelenmiştir. Örneklerin tamamı PCR ile test edilmiş olsa da yalnızca 720 örnek kültür ve PCR kombinasyonu kullanılarak analiz edilmiştir. Örneklerin toplandığı dokuz coğrafi konumdan sekizinde mikoplazmalar saptanmıştır. Mezbahadan alınan ve pnömoni tablosu bulunan 58 akciğer örneğinden 36'sı, bir çiftlikten yine pnömoni tablosu bulunan 3 hayvandan alınan bronşiyal yıkantı sıvısından yapılan 3'ü de PCR ile mikoplazma genusu yönünden pozitif bulunurken hiç birisi (%0) *M. mycoides* subsp. *capri* olarak saptanmamıştır. Valsala ve ark. (2017), 2003-2012 yılları arasında pnömonili keçilerden toplanan 244 akciğer örneğini PCR ile incelemişler sadece bir örneği *M. mycoides* subsp. *capri* pozitif

olarak bulduklarını rapor etmişlerdir. Yang ve ark. (2024), Çin Qinghai Eyaletindeki koyunlarda bulaşıcı plöropnömoni prevalansı PCR analizi ile araştırılmıştır. Qinghai eyaletindeki 17 koyun çiftliğinden toplam 340 burun svabı 84'ü (%24.71) *M. mycoides* subsp. *capri* (Mmc) yönünden PCR ile pozitif bulunmuştur. Araştırmacılar Mmc için, 0-6 aylık koyunların pozitif oranı, 6-12 aylık koyunlarınkinden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğunu, koçlarla karşılaştırıldığında, koyunlardaki Mmc'nin pozitif oranının 0,6 kat daha yüksek bulunduğunu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilmediğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da incelenen 100 örnekten direkt dokudan elde edilen DNA örneklerinde pozitiflik saptanamazken kültür sonrası elde edilen DNA örneklerinden 5'nde (%5) pozitiflik saptanmıştır. Elde edilen bu sonucun, diğer araştırmacıların sonuçları ile (%0-24.71) karşılaştırıldığında örneklerin toplanma mevsimi, farklı coğrafik bölgelerden toplanması, örnek sayısı, örnek toplanan sürü sayısı, örnek toplanan hayvanların yaşı gibi sonucu etkileyebilen diğer faktörler nedeniyle uyumlu olduğu düşünülmektedir.

M. ovipneumoniae, keçilerde ölümcül bir enfeksiyona neden olarak dünya çapında, küçük ruminant endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Göçmen ve ark. (2015), Bursa, Balıkesir, Çanakkale ve Edirne illerinden alınan koyun ve keçilerden toplanan 339 adet örneğin ikisinden *M. ovipneumoniae* izolasyonu bildirmişlerdir. Karatekeli (2019), Isparta ve Afyonkarahisar yörelerinde bulaşıcı agalaksi hastalığını araştırmak için taradıkları 45.500 koyun ve keçiden topladığı 202 adet örnekten 2 adet (%0,99) *M. ovipneumoniae* izolasyonu bildirmişlerdir. Deeney ve ark. (2021), İngiltere ve Galler'den 2005-2019 yılları arasında APHA Waybridge'e gönderilen koyun ve keçi klinik tanı örneklerinde moleküler tekniklerle saptanan *M. ovipneumoniae* pozitiflik oranını %54,4 7 olarak rapor etmişlerdir. Mousa ve ark. (2021), Mısır'da koyun ve keçilerden izole edilen mikoplazmaların karakterizasyonu için yaptıkları çalışmada *M. ovipneumoniae* için % 3,8 (4/104) pozitiflik oranı saptamışlardır. Chen ve ark. (2024), Çin'in Anhui Eyaletinde, Kasım 2021'den Ocak 2023'e kadar, düşük büyüme hızı, iştah baskılanması, ateş yükselmesi, burun akıntısı ve öksürük gibi tipik pnömoni belirtileri gösteren 20 keçi sürüsünden toplam 1320 örnek (600 aşılammış kan örneği, 400 burun svabı, 200 plevral sıvı örneği ve 120 akciğer dokusu örneği) ile yaptıkları çalışmada PCR ile 8 *M. ovipneumoniae* suşu tanımlamıştır. Yang ve ark. (2024), Qinghai Eyaletindeki koyunlarda bulaşıcı plöropnömoni prevalansı PCR analizi ile araştırılmıştır. Qinghai eyaletindeki 17 koyun çiftliğinden toplam 340 burun svabından 148 (%43,53) adedi *M. ovipneumoniae* için pozitif bulunmuştur. Udhayavel ve ark. (2024), Hindistan'ın

Tamil Nadu eyaletinde solunum yolu klinik belirtileri gösteren koyun ve keçilerde *M. ovipneumoniae* infeksiyonlarının moleküler prevalansını belirlemek için Ocak - 2024 Mart döneminde, Tamil Nadu'nun çeşitli bölgelerinde yetiştirilen tipik solunum yolu belirtileri gösteren koyun ve keçilerden toplam 200 örnek (186 burun svabı ve 14 akciğer dokusu örneği) toplamışlardır. Araştırmacılar *M. ovipneumoniae* için genel pozitiflik oranının %30 olduğunu bildirmişlerdir.

Kılıc ve ark. (2013), 2008-2010 yılları arasında Elazığ'da bulunan mezbahalardan elde edilen 180 örnek ve Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne farklı illerden teşhis için getirilen 36 örnek (200 koyun ve 16 kuzu) olmak üzere toplam 2016 akciğer örneğini kültür, PCR ve immunperoksidaz teknikleri ile incelemişlerdir. Örneklerden 80'i (%37.0) ve kültür yolu ile pozitif değerlendirilirken, 96 örnek (%44.4) sıvı kültürden yapılan geniş spesifik PCR ile, 36'sı (%16.6) direkt akciğer dokusundan yapılan genus spesifik PCR ile pozitif olarak saptanmıştır. Sıvı kültürden genus spesifik PCR ile pozitif bulunan 96 örneğin 57'si tür spesifik PCR ile *M. ovipneumoniae* ve 31'i (%32.29) tür spesifik PCR ile *M. arginini* olarak değerlendirilmiştir.

Bottinelli ve ark. (2017), diğer solunum patojenlerinin tespiti ile ilişkili olarak çok genç yaştaki süt kuzularının pnömonik akciğerlerindeki mikoplazma popülasyonu üzerine yaptıkları bir epidemiyolojik araştırmada 115 akciğer doku örneğinden elde edilen genomik DNA ile mikoplazma türleri için bir DNA Mikroarray ve *Manheimia haemolytica*, Parainfluenza-3 virüsü (PI3V) ve Respiratuar Sinsityal Virüs (RSV) için üç PCR testi kullanılarak test edilmiştir. 25 hayvanda *M. ovipneumoniae* (%21,7), altısında da *M. arginini* (%5,2) pozitif çıkmıştır. DNA mikroarray testi ile hiçbir atipik mikoplazma türü tespit edilmemiştir. Valsala ve ark. (2017), yaptıkları çalışmada keçilerden alınan 244 örnekten 13'ünde (%5,3) *M. arginini* tespit etmişlerdir. Halium ve ark. (2019), Mısır'da, klinik olarak etkilenen koyun ve keçilerden 142 burun svabı, 167 pnömonik akciğer, 18 trakeal bifurkasyon ve 8 bronşiyal yıkama örneği olmak üzere toplam 335 örnek toplamış ve mikoplazma türlerinin izolasyonu için ekimler yapmışlardır. Elde edilen 24 izolat biyokimyasal testlerle tanımlanmış ve spesifik primerler kullanılarak PCR ile doğrulanmış ve tiplendirilmiştir. Buna göre 10 izolat *M. arginini*, dört izolat *M. ovipneumoniae* olarak saptanırken, 10 izolatın da farklılaşmamış mikoplazma türleri olduğu PCR ile doğrulanmıştır.

Gazioğlu ve ark. (2016), Mousa ve ark. (2021), Mısır'da koyun ve keçilerden izole edilen mikoplazmaların karakterizasyonu için yaptıkları çalışmada incelen 104

örneğin beşinde (%4,8) *M. arginini* saptadıklarını bildirmişlerdir. Deeney ve ark. (2021), 2005-2019 yılları arasında İngiltere ve Galler'den APHA Waybridge'e gönderilen koyun ve keçi klinik tanı örneklerinde moleküler tekniklerle saptanan *M. arginini* pozitiflik oranını %28,56 olarak bildirmişlerdir. Karatekeli (2019), Isparta ve Afyonkarahisar yörelerinde 45.500 koyun ve keçiden alınan 202 adet örnekten 1 adet (%0,49) *M. arginini* izolasyonu bildirmişlerdir. Öztürkler (2019), Kars yöresinde pnömonili koyun akciğerlerinden mikoplazma etkenlerini kültürel ve moleküler yöntemlerle araştırdığı çalışmada 250 koyun akciğer örneğini değerlendirmiştir. Araştırmacı bu örneklerden 26'sından (%10,4) *Mycoplasma* spp. olarak tanımlanan etken izolasyonu gerçekleştirmiştir. Bu etkenlerin 12'si (%46,15) *M. ovipneumoniae*, 4'ü (%15, 38) *M. arginini* olarak saptanmıştır. Dae ve ark. (2019), İran'da pnömoni bulşunan doğal enfekte bir sürüde etiyolojik olarak mikoplazmaları araştırdıkları çalışmada 50 koyun akciğer örneğini incelemişlerdir. Kültür sonucunda 3 örnekten agarda tipik kolonilerin oluştuğu görülmüştür. Akciğer örneklerinden PCR ile *M. ovipneumoniae* için 2 (%4) ve *M. arginini* için 7 (%14) pozitiflik saptarken, kültür yolu agarda tipik koloni görülen 3 izolataın tamamı PCR ile *M. arginini* olarak belirlenmiştir.

Çetinkaya ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye'nin doğu bölgesinden toplanan 32 keçi örneğinin 12'sinden, 13 koyun örneğinin de ikisinden *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae* izole edilmiş ve moleküler olarak doğrulanmıştır. Khodakaram-Tafti ve ark. (2023), İran'ın Meşhed kentindeki bir mezbahadan alınan 50 akciğer doku örneğinden 3'ü (%6) *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae* ve 3'ü (%6) *M. arginini* için pozitif bulunmuştur.

Giadinis ve ark. (2008), 2005 yılında Yunanistan'da 400 başlık bir keçi sürüsünde solunum sistemi ve lokomotor bozuklukları görülen ve 38 hayvanın öldüğü bir vakada yaptıkları incelemelerden sonra laboratuvara gönderilen süt, akciğer ve eklem sıvısı örneklerinden *M. capricolum* subsp. *capricolum* saptandığını bildirmişlerdir. Semmate ve ark. (2022), Fas'ta klinik semptom bulunan keçilerden alınan süt, akciğer dokusu ve sinovyal sıvı örneklerinde PCR ile *M. capricolum* subsp. *capricolum* saptamışlar, ayrıca akciğer dokusundan etkeni izole etmişlerdir.

Pooladgar (2014), İran'ın Khuzestan eyaletinde koyunlardan alınan süt, göz, kulak, burun ve eklem sıvısından alınan toplam 91 örnekten kültür ve PCR tekniği ile *M. agalactiae* varlığını araştırmışlardır. İncelenen 91 örnekten 34'ünün (%37,36) kültüründe PPLO agarda tipik mikoplazma kolonileri görülmüş, 47'si (%51,65) mikoplazma cinsi PCR ile, 8'i (%8,79) ise *M. agalactiae* PCR tanı yöntemi ile pozitif

olarak raporlanmıştır. Öztürk ve Yaman (2024), pnömoni, mastitis ve artrit sempoileri ile ölümler görülen bir keçi çiftliğinde mikoplazma infeksiyonunun varlığını bakteriyolojik yöntemlerle belirlemek için hasta hayvanların süt ve eklem sıvısı örnekleri ile ölen hayvanlardan alınan iç organ örneklerinden izolasyon için kültür yapmışlar ve oluşan kolonileri *M. agalactiae*. olarak tanımlamışlardır. Ayrıca sürüden 813 hayvandan alınan kan serumu örneğinde de ELISA ile *M. agalactiae* için %10,2 seropozitiflik saptamışlardır.

Yapılan bu çalışmada ise araştırılan *M. ovipneumoniae*, *M. arginini* *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae*, *M. capricolum* subsp. *capricolum*, *M. agalactiae* yönünden pozitiflik saptanmadı. Elde edilen bu sonucun, araştırmacılar Yang ve ark. (2024) tarafından da belirtilen örneklerin toplandığı hayvanların yaşı, örneklerin toplanma mevsimi, örneklerin toplandığı coğrafik bölgelerin farklı olması, örnek sayısı, örnek toplanan sürü sayısı gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebileceği düşünülmektedir.

Diğer yandan yapılan bu çalışmada PCR tekniği hem lezyonlu akciğer dokusundan elde edilen DNA örnekleri, hem de doku örneklerinden hazırlanan inokulumun sıvı besiyerinde kültüre edilmesinden sonra besiyerinden elde edilen DNA örnekleri ile gerçekleştirilmiştir. Pozitif olarak belirlenen *M. mycoides* subsp. *capri* varlığının tamamı da kültürden yapılan PCR ile saptanırken, dokudan yapılan PCR ile herhangi bir pozitif sonuç alınamamıştır. Elde edilen bu sonuç, Kılıc ve ark. (2013) tarafından bildirilen sıvı kültürden PCR ile %44, dokudan PCR ile %16,6 pozitiflik oranları ile uyumlu bulunmaktadır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda Şanlıurfa bölgesinde koyun ve keçilerdeki pnömoni olgularının etiyojisinde *M. mycoides* subsp. *capri* 'nin de rol oynadığı anlaşılmıştır. Ancak diğer mikoplazma türleriyle ilişkili bir sonuç elde edilmediği için, bu türlerin bölgedeki pnömoni vakalarındaki rolünün sınırlı olduğunu söylemek bilimsel olarak doğru olmayacaktır. Tespit edilen %5'lik pozitif oranı etkenin görülme sıklığının çok yüksek olmadığını düşündürse de örnekleme zamanı ve örnek sayısının düşük olması nedeniyle gerçek durumun belirlenmesi için başka çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir. Sadece sıvı besiyerinden elde edilen DNA ile yapılan PCR'da pozitiflik elde edilmesi, kültür-PCR tekniğinin etkeni saptamada daha avantajlı olduğu söylenebilir. Ayrıca doku örneklerinden yapılan direkt PCR testlerinin negatif çıkması, doku materyalindeki DNA miktarının düşük olabileceğini veya dokuların PCR inhibitörleri içerdiğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak Şanlıurfa bölgesinde mezbahada kesilen ve makroskopik olarak pnömoni tablosu bulunan koyun ve keçilerde etiyojik olarak *M. mycoides* subsp. *capri* varlığının gösterilmesi, gelecekte bölge için ciddi ekonomik kayıplara neden olabilecek bir riskin mevcut olduğu, her ne kadar tespit edilememiş olsa da, diğer mikoplazmaların da bölgede mevcut olmasının muhtemel olduğu kanısına varıldı. Bu nedenle benzer çalışmaların çok daha uzun zaman diliminde ve farklı mevsimlerde, çok daha fazla örnekleme yapılarak tekrar edilmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

7. ÖNERİLER

Tanı tekniklerindeki farklılıklar nedeniyle doku örneklerinden direkt PCR ile pozitiflik oranını artırmak için, DNA izolasyon protokolleri gözden geçirilmeli ve PCR inhibitörlerini elimine eden yöntemler kullanılmalıdır.

Bölgedeki diğer mikoplazma türlerinin pnömoni vakalarındaki potansiyel rollerini daha kapsamlı araştırmak için farklı bölgelerde, farklı mevsimlerde alınacak daha geniş örneklem gruplarıyla çalışılmalıdır.

Küçük ruminantlarda mikoplazma hastalıklarına yönelik aşılamanın, Dünya genelinde hala iyileştirilmesi gereken birçok yönü bulunmaktadır. Günümüzde kullanılan aşılardan çoğu formalin ile inaktive edilmiş tam hücre aşılardır ve bu aşılardan etkinliği konusunda ya sınırlı bilgiler mevcuttur ya da hiç yayınlanmamış veri bulunmamaktadır (Dudek ve ark., 2022). Bununla birlikte, Türkiye’de onlarca yıldır kullanılan bir canlı attenüe aşının, hem güvenli hem de koruyucu olarak başarıyla kullanıldığı bildirilmiştir (Ozdemir ve ark. 2019). Ancak *M. mycoides* subsp. *capri*’nin pnömoni vakalarındaki rolü dikkate alınarak, bu türe yönelik mevcut aşılardan etkinliği yeniden gözden geçirilmeli veya yeni aşılardan geliştirilmelidir. Her ne kadar Türkiye’de uygulanan canlı attenüe aşının başarılı olduğu bildirilmişse de antijenik mutasyonların oluşabileceği de unutulmamalı ve aşı süşunun, hastalık vakalarından elde edilen saha izolatları ile antijenik yapılarının belirli dönemlerde karşılaştırılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Elde edilen bulgular, antibiyotik tedavisi veya profilaksi stratejilerinin yeniden gözden geçirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Mezbahada bu türün tespit edilmesi, enfekte hayvanların kontrolsüz yayılımının önlenmesi için karantina ve biyogüvenlik önlemleri artırılmalıdır.

Pozitif izolatlardan genetik analiz yapılması, bu patojenin bölgesel varyantlarını veya türler arası genetik ilişkileri anlamada faydalı veriler sağlayabilir.

Ayrıca, hastalığın sürü düzeyinde yayılımını belirlemek için epidemiyolojik çalışmalar yapılmalıdır.

Bu öneriler, bulaşıcı agalaksiya vakalarının kontrol altına alınmasına yönelik daha etkili politikaların geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

Araştırmanın sınırlılıkları

Yüksek Lisans Tez çalışması için iki eğitim-öğretim dönem olarak kısa olması, projenin fon desteğinin sağlanması için zaman gerekmesi gibi nedenlerle projenin çalışılabileceği süreyi kısaltmakta, özellikle numune toplama zamanı olması gereken dönemlerin dışında kalabilmektedir. Diğer taraftan fon desteklerinin çok az olması işlenecek numune sayısına büyük kısıt getirmektedir. Bu nedenlerle bu tez çalışmasında da istenen zaman diliminde, istenen sayıda numune toplanmasında kısıtlılıklar oluşmuştur.

KAYNAKLAR

- Abubakr, M. I., Elfaki, M. E., Abdalla, S. A., & Kamal, S. M. (1981). Pathological studies on sheep and goats pneumonia in the Sudan. II. Experimental infection. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*, 29(1), 85-94.
- Adehan, R. K., Ajuwape, A. T. P., Adetosoye, A. I., & Alaka, O. O. (2006). Characterization of Mycoplasmas isolated from pneumonic lungs of sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 63(1-2), 44-49.
- Akan, M., Babacan, O., Torun, E., HK, M., & Öncel, T. (2014). Diagnosis of *Mycoplasma bovis* infection in cattle by ELISA and PCR. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(2). 249-252.
- Awan, M. A., Abbas, F., Yasinzai, M., Nicholas, R. A., Babar, S., Ayling, R. D., Attique, M.A., Ahmed, Z., Wadood, A. & Khan, F. A. (2010). First report on the molecular prevalence of *Mycoplasma capricolum subspecies capripneumoniae* (Mccp) in goats the cause of contagious caprine pleuropneumonia (CCPP) in Balochistan province of Pakistan. *Molecular Biology Reports*, 37(1), 3401-3406.
- Aydın, N., İzgür, M., Diker, K. S., Yardımcı, H., Esendal, Ö., Paracıkoğlu, J., & Akan, M. (2006). Veteriner mikrobiyoloji (Bakteriyel hastalıklar). (s. 145-163) içinde. Ankara: İlke-Emek Matbaacılık ve Yayıncılık.
- Azizi, S., Korani, F. S., & Oryan, A. (2013). Pneumonia in slaughtered sheep in south-western Iran: pathological characteristics and aerobic bacterial aetiology. *Veterinaria Italiana*, 49(1), 109-118.
- Bell, S. (2008). Respiratory disease in sheep: 1. Differential diagnosis and epidemiology. *In practice*, 30(4), 200-207.
- Bergonier, D., Berthelot, X., & Poumarat, F. (1997). Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 16(3), 848-873.
- Bottinelli, M., Passamonti, F., Rampacci, E., Stefanetti, V., Pochiero, L., Coletti, M., Rueca, F., Hyatt, D.R. & Schnee, C. (2017). DNA microarray assay and real-time PCR as useful tools for studying the respiratory tract Mycoplasma populations in young dairy calves. *Journal of medical microbiology*, 66(9), 1342-1349.
- Buddle, B. M., Pfeffer, A., Cole, D. J. W., Pulford, H. D., & Ralston, M. J. (1990). Experimental respiratory infection of goats with caprine herpesvirus and *Pasteurella haemolytica*. *New Zealand Veterinary Journal*, 38(1), 22-27.
- Chen, J., Wang, S., Dong, D., Zhang, Z., Huang, Y., & Zhang, Y. (2024). Isolation and Characterization of *Mycoplasma ovipneumoniae* Infecting Goats with Pneumonia in Anhui Province, China. *Life*, 14(2), 218.
- Cordy, D. R., Adler, H. E., & Yamamoto, R. (1955). A pathogenic pleuropneumonia-like organism from goats. *Cornell Veterinary*, 45(1), 50-68.

- Cordy, D. R. (1984). Septicaemia and pneumonia in *Mycoplasma capricolum* infections of young goats. *Australian Veterinary Journal*, 61(6), 201-202.
- Cottew, G. S., & Yeats, F. R. (1978). Subdivision of *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* from cattle and goats into two types. *Australian Veterinary Journal*, 54(6), 293-296.
- Cottew, G. S., Breard, A., DaMassa, A. J., Ernø, H., Leach, R. H., Lefevre, P. C., Rodvell, A.W. & Smith, G. R. (1987). Taxonomy of the *Mycoplasma mycoides* cluster. *Israel journal of medical sciences*, 23(6), 632-635.
- Çetinkaya, B., Kalin, R., Karahan, M., Atil, E., Manso-Silvan, L., & Thiaucourt, F. (2009). Detection of contagious caprine pleuropneumonia in East Turkey. *Revue scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 28(3), 1037-1044.
- Çolpan, İ. (2008). Koyun Besleme. A. Ergün, İ. Çolpan, G. Yıldız, S. Küçükersan, Ş.D. Tuncer, S. Yalçın, M.K. Küçükersan, A. Şehu, (editörler). Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları. (4. Baskı, s. 313-314.) içinde. ANKARA Pozitif yayınları.
- Daei, A.A., Khodakaram-Tafti, A., Derakhshandeh, A. & Seyedin, M. (2019). Identification of *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Mycoplasma arginini* in sheep with pneumonia in North East of Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 21(1), 15-19.
- Dağ, S., Gürbüz, A., Özen, H., Büyük, F., Çelebi, Ö., Karaman, M., Çitil, M. & Karakurt, E. (2018). Immunohistochemical and molecular detection of Mannheimia spp. and pasteurella spp. in sheep with pneumonia in Kars province-Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(2), <https://doi.org/10.9775/kvfd.2017.18840>
- DaMassa, A. J., Brooks, D. L., Adler, H. E., & Watt, D. E. (1983). Caprine mycoplasmosis: acute pulmonary disease in newborn kids given *Mycoplasma capricolum* orally. *Australian Veterinary Journal*, 60(4), 125-126.
- DaMassa, A. J., Brooks, D. L., Holmberg, C. A., & Moe, A. I. (1987). Caprine mycoplasmosis: an outbreak of mastitis and arthritis requiring the destruction of 700 goats. *The Veterinary record*, 120(17), 409-413.
- Dar, L. M., Darzi, M. M., Mir, M. S., Kamil, S. A., Rashid, A., Abdullah, S., Hussain, S.A., Rather, F.A. & Parihar, S. (2014). Histopathological and histoenzymatic studies on bronchopneumonia in sheep. *Journal of Applied Animal Research*, 42(3), 289-296.
- Deeney, A.S., Collins, R. & Ridley, A.M. (2021). Identification of Mycoplasma Species and Related Organism From Ruminants in England and Wales During 2005-2019. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 325.
- Dudek, K., Sevimli, U., Migliore, S., Jafarizadeh, A., Loria, G.R., Nicholas, R.A.J. (2022). Vaccines for Mycoplasma Diseases of Small Ruminants: A Neglected Area of Research. *Pathogens*, 11(1), 75.

- Esendal, Ö.M. (2002). Mikoplazma Enfeksiyonları. M. Arda, A. Minbay, N. Aydın, M. İzgür, H. Yardımcı, Ö.M. Esendal, J. Erdeğer, M. Akan, (Editörler). Kanatlı Hayvan Hastalıkları. (26. Baskı, s. 79-92) içinde. Ankara: Medisan Yayınları.
- Ettorre, C., Sacchini, F., Scacchia, M., & Della Salda, L. (2007). Pneumonia of lambs in the Abruzzo region of Italy: anatomopathological and histopathological studies and localisation of *Mycoplasma ovipneumoniae*. *Veterinaria italiana*, 43(1), 149-155.
- Faburay, B., & McVey, D. S. (2022). Mollicutes. *Veterinary Microbiology*, 364-376.
- Fernández, S., Galapero, J., Rey, J., Pérez, C. J., Ramos, A., Rosales, R., Ayling, R., Alonso, J.M. & Gómez, L. (2016). Investigations into the seasonal presence of *Mycoplasma species* in fattening lambs. *The Veterinary Journal*, 212(1), 80-82.
- Gazioğlu, A., Yüksel, H., & Kızıl, Ö. (2016). Fibrinli pnömonili oğlaklarda *Mycoplasma arginini* ve Mannheimia haemolytica enfeksiyonu. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 30(3), 229-232.
- Giadinis, N. D., Petridou, E. J., Sofianidis, G., Filioussis, G., Psychas, V., Hatzopoulou, E., & Karatzias, H. (2008). Mortality in adult goats attributed to *Mycoplasma capricolum subspecies capricolum*. *The Veterinary Record*, 163(9), 278.
- Gilmour, J. S., Jones, G. E., Keir, W. A., & Rae, A. G. (1982). Long-term pathological and micro-biological progress in sheep of experimental disease resembling atypical pneumonia. *Journal of comparative pathology*, 92(2), 229-238.
- Göçmen, H., Ülgen, M., Çarlı, K. T., Önat, K., Kahya, S., Özdemir, Ü., & Mat, B. (2015). Koyun ve keçilerde bulaşıcı agalaksi hastalığının bakteriyolojik ve PCR metotları ile araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(1), 75-80.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. (2007). Solunum. H. Çavuşoğlu, B.Ç. Yeğen (Çev. Ed.). ve L. Çakar, G. Şahin, N. Yermen (Çev.). Tıbbi Fizyoloji. (11. Baskı, s. 469-533.) içinde. Nobel Tıp Kitapevleri.
- Güllü Yüce-tepe, A. (2023). Şanlıurfa Bölgesindeki Evcil Kanatlılardan *Mycoplasma gallisepticum* İzolasyonu ve Moleküler Karakterizasyonu. (Doktora Tezi). Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Günaydın G. (2009). Koyun yetiştiriciliğinin ekonomi politikası. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2): 15-32.
- Haliu, M. M. A., Salib, F. A., Marouf, S. A., & Massieh, E. S. A. (2019). Isolation and molecular characterization of *Mycoplasma spp.* in sheep and goats in Egypt. *Veterinary World*, 12(5), 664.
- Hernandez, L., Lopez, J., St-Jacques, M., Ontiveros, L., Acosta, J., & Handel, K. (2006). *Mycoplasma mycoides subsp. capri* associated with goat respiratory

- disease and high flock mortality. *The Canadian Veterinary Journal*, 47(4), 366.
- Ikheloa, J. O., Ajuwape, A. T. P., & Adetosoye, A. I. (2004). Biochemical characterization and serological identification of mycoplasmas isolated from pneumonic lungs of goats slaughtered in abattoirs in Northern Nigeria. *Small Ruminant Research*, 52(1-2), 93-97.
- Jones, G. E., & Wood, A. R. (1988). Microbiological and serological studies on caprine pneumonias in Oman. *Research in Veterinary Science*, 44(1), 125-131.
- Jones, G. E., Rae, A. G., Holmes, R. G., Lister, S. A., Jones, J. M. W., Grater, G. S., & Richards, N. (1983). Isolation of exotic mycoplasmas from sheep in England. *Veterinary Record*, 113(23), 540.
- Karatekele, Ü. (2019). Isparta ve Afyonkarahisar yöresinde koyun ve keçilerde bulaşıcı agalaksi hastalığı varlığının araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi). Afyon Kocatepe Üniversitesi.
- Kaymakçı, M., Eliçin, A., Tuncel, E., Pekel, E., Karaca, O., Işın, F., Taşkın, T., Aşkın, Y., Emsen, H., Özder, M., Selçuk, E. & Sönmez, R. (2000). Türkiye’de küçükbaş hayvan yetiştiriciliği. *Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi*, 2, 765-793.
- Khodakaram-Tafti, A., Derakhshandeh, A., A Daei, A., & Seyedin, M. (2023). Identification of *Mycoplasma capricolum* subspecies *capripneumoniae* and *Mycoplasma arginini* by culture, PCR, and histopathology in pneumonic lungs of slaughtered goats in Mashhad, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 24(2), 96.
- Kılıc, A., Kalender, H., Eroksuz, H., Muz, A., & Tasdemir, B. (2013). Identification by culture, PCR, and immunohistochemistry of mycoplasmas and their molecular typing in sheep and lamb lungs with pneumonia in Eastern Turkey. *Tropical animal health and production*, 45, 1525-1531.
- Kıran, M.M. (1990). Konya bölgesi kuzu pnömonilerinde patolojik ve etiyolojik araştırmalar. (Doktora tezi). Konya: Selçuk Üniversitesi.
- Kıran, M.M., Kaya, O., Dinçer, Z., & Berkin, Ş. (1993). Konya bölgesi koyun pnömonilerinde patolojik ve etiyolojik araştırmalar. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9(1), 3-9.
- Kumar, P., Roy, A., Bhandari, B. B., & Pal, B. C. (2011). Isolation, identification and molecular characterization of Mycoplasma isolates from goats of Gujarat State, India. *Veterinarski Arhiv*, 81(4), 443-458.
- Lambert, M. (1987). Contagious agalactia of sheep and goats. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 6(1), 699-711.
- Leach, R. H. (1970). The occurrence of *Mycoplasma arginini* in several animal hosts. *Veterinary Record*, 87(1), 319-320.

- Lin, Y. C., Miles, R. J., Nicholas, R. A. J., Kelly, D. P., & Wood, A. P. (2008). Isolation and immunological detection of *Mycoplasma ovipneumoniae* in sheep with atypical pneumonia, and lack of a role for *Mycoplasma arginini*. *Research in Veterinary Science*, 84(3), 367-373.
- Lorenzon, S., Wesonga, H., Ygesu, L., Tekleghiorgis, T., Maikano, Y., Angaya, M., Hendriks, P. & Thiaucourt, F. (2002). Genetic evolution of *Mycoplasma capricolum subsp. capripneumoniae* strains and molecular epidemiology of contagious caprine pleuropneumonia by sequencing of locus H2. *Veterinary Microbiology*, 85(2), 111-123.
- Margineda, C. A., Zielinski, G. C., Jurado, S. B., Ferella, A., Mozgovoij, M. V., Alcaraz, A. C., & López, A. (2017). *Mycoplasma bovis* pneumonia in feedlot cattle and dairy calves in Argentina. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 10(2), 79-86.
- Migliore, S., Condorelli, L., Galluzzo, P., Galuppo, L., Corrente, A., Lepri, E., Ridley, A., Loria, G.R. & Puleio, R. (2024). First Description of *Mycoplasma agalactiae* Anatomical Localization in Naturally Infected Hard Ticks (*Rhipicephalus bursa*). *Microorganisms*, 12(7), 1390.
- Mousa, W. S., Zaghawa, A. A., Elsify, A. M., Nayel, M. A., Ibrahim, Z. H., Al-Kheraije, K. A., Elhalafawy, H.R., El-Shafey, D., Anis, A. & Salama, A. A. (2021). Clinical, histopathological, and molecular characterization of *Mycoplasma species* in sheep and goats in Egypt. *Veterinary World*, 14(9), 2561.
- Neder, V. E., Allasia, M., Amadio, A., & Calvinho, L. F. (2019). First report of *Mycoplasma leachii* isolation associated with disease in dairy calves in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(1), 18-21.
- Nicholas, R. A. J., Ayling, R. D., & Loria, G. R. (2008). Ovine mycoplasmal infections. *Small Ruminant Research*, 76(1-2), 92-98.
- Nicholas, R., Ayling, R., & McAuliffe, L. (2008). Bovine respiratory disease. In *Mycoplasma diseases of ruminants* (pp. 132-168). Wallingford UK: CAB International.
- Nicholas, R. A. J., & Ayling, R. D. (2003). *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. *Research in veterinary science*, 74(2), 105-112.
- Nicholas, R., Ayling, R., & McAuliffe, L. (2008). Contagious agalactia. In *Mycoplasma diseases of ruminants* (pp. 98-113). Wallingford UK: CAB International.
- Nicholas, R., Ayling, R., & McAuliffe, L. (Eds.). (2008). *Mycoplasma diseases of ruminants*. CAB International.
- Nicholas, R. A. J. (2002). Improvements in the diagnosis and control of diseases of small ruminants caused by mycoplasmas. *Small Ruminant Research*, 45(2), 145-149.
- Nicholas, R., Ayling, R., & McAuliffe, L. (2008). Respiratory diseases of small

- ruminants. In *Mycoplasma diseases of ruminants* (pp. 169-198). Wallingford UK: CAB International.
- Olaogun, O. M., Kanci, A., Barber, S. R., Tivendale, K. A., Markham, P. F., Marenda, M. S., & Browning, G. F. (2015). Genetic diversity of *Mycoplasma arginini* isolates based on multilocus sequence typing. *Veterinary Microbiology*, 180(1-2), 123-128.
- Olaogun, O. M., Kanci, A., Barber, S. R., Tivendale, K. A., Markham, P. F., Marenda, M. S., & Browning, G. F. (2017). Survey of Victorian small ruminant herds for mycoplasmas associated with contagious agalactia and molecular characterisation of *Mycoplasma mycoides subspecies capri* isolates from one herd. *Australian veterinary journal*, 95(10), 392-400.
- Oruc, E. (2006). The pathologic and bacteriologic comparison of pneumonia in lambs. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 30(6), 593-599.
- Ozdemir, U., Turkyılmaz, M.A., Nicholas, RAJ. (2019). A live vaccine for contagious agalactia is protective but does not provoke an ELISA response. *Animal Husbandry, Dairy and Veterinary Science*, 3(1), 1-3.
- Önat, K. (2011). Sığır pnömonilerinde *mycoplasma bovis* varlığının kültür ve ELISA yöntemleri ile araştırılması. (Doktora Tezi). Bursa Uludağ Üniversitesi.
- Öztürk, D., & Yaman, S. (2024). Diagnosis of *Mycoplasma agalactiae* from various specimens of goats. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 12(1), 40-45.
- Öztürkler, O. (2019). Kars yöresinde pnömonili koyun akciğerlerinden mycoplasma etkenlerinin kültürel ve moleküler yöntemlerle araştırılması. (Doktora Tezi). Kafkas Üniversitesi.
- Parent, R.A. (2015). *Comparative biology of the normal lung*. Academic Press.
- Parray, O. R., Yattoo, M. I., Bhat, R. A., Malik, H. U., Bashir, S. T., & Magray, S. N. (2019). Seroepidemiology and risk factor analysis of contagious caprine pleuropneumonia in Himalayan Pashmina Goats. *Small Ruminant Research*, 171(1), 23-36.
- Pooladgar, A.R. (2014). Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5(6), 839-847.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Fitzpatrick, E. S., & Fanning, S. (2018). *Microbiologia Veterinária Essencial*. Artmed Editora.
- Rainey, F., Kämpfer, P., Trujillo, M., Chun, J., DeVos, P., Hedlund, B., & Dedysh, S. (2015). *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria* (410. Baskı). W. B. Whitman (Ed.). Hoboken, NJ: Wiley.
- Ruffin, D. C. (2001). Mycoplasma infections in small ruminants. *Veterinary clinics of North America: food animal practice*, 17(2), 315-332.

- Salisch, H., Hinz, K. H., Graack, H. D., & Ryll, M. (1998). A comparison of a commercial PCR-based test to culture methods for detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in concurrently infected chickens. *Avian pathology*, 27(2), 142-147.
- Semmate, N., Zouagui, Z., Elkarhat, Z., Bamouh, Z., Fellahi, S., Tligui, N., Boumart, Z., Fihri, O.F. & El Harrak, M. (2022). Molecular characterization and pathogenicity of *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum* from goats in Morocco. *Animal Diseases*, 2(1), 12.
- Sevimli, Ü., & Erpek, Ş. H. (2022). Bulaşıcı Keçi Ciğer Ağrısı Enfeksiyonu, Epidemiyoloji, İzleme ve Eradikasyon Stratejileri. *Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences-Obstetrics and Gynecology-Special Topics*, 8(1), 76-81.
- Sheikh-Omar, A. R., & Mutalib, A. R. (1985). Isolation of *Mycoplasma arginini* from a goat in Malaysia.[Correspondence]. *Veterinary Record*, 116(12), 330-331.
- Taoudi, A., Johnson, D. W., Kheyyali, D., & Kirchhoff, H. (1987). Pathogenicity of *Mycoplasma capricolum* in sheep after experimental infection. *Veterinary Microbiology*, 14(2), 137-144.
- Tarım ve Orman Bakanlığı. (2014). Teşhiste metot birliği. Bakteriyoloji. In: Bulaşıcı Agalaksi (Contagious Agalactiae)'nin Teşhisi. Ed. Diker S.K. 1st ed. Kanatlı Hastalıkları. Tarım ve Orman Bakanlığı; 2014. s. 155-157.
- Thiaucourt, F., & Bölske, G. (1996). Contagious caprine pleuropneumonia and other pulmonary mycoplasmoses. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 15(4), 1397-1414.
- Thomas, P. (1873). *Rapport médical sur le Bou Frida*. l'Algérie Ggcd (Ed.), Jourdan A, Alger, (35).
- Udhayavel, S., Sukumar, K., Senthilkumar, K., Srinivasan, P., & Elango, A. (2024). Molecular Prevalence of *Mycoplasma ovipneumoniae* in Small Ruminants in Tamil Nadu, India. *Asian Journal of Microbiology and Biotechnology*, 9(2), 22-28.
- Valsala, R., Rana, R., Remesh, A. T., & Singh, V. P. (2017). *Mycoplasma arginini*: High frequency involvement in goat pneumonia. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 41(3), 393-399.
- Wawegama, N. K., & Browning, G. F. (2017). Improvements in diagnosis of disease caused by *Mycoplasma bovis* in cattle. *Animal Production Science*, 57(7), 1482-1487.
- WOAH. (2021). Avian Mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*); Terrestrial Manuel. Chapter 3.3.5., 1-14.
- WOAH. (2018). Contagious agalactia. In Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 3.8.3., Paris.
- WOAH. (2014). Contagious caprine pleuropneumonia. In Manual of Diagnostic

Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 2.7.5., Paris.

Yang, H., Chen, Y., Rahman, S. U., Wang, Y., Ni, S., Jiang, Y., Zhu, F., Li, D., Cao, Q., Chang, J., Wen, Y., Chen, D. & Wentao, M. (2024). Characterization and epidemiologic analysis of mycoplasmal pneumonia of sheep in Qinghai Province. *Plos one*, 19(5), e0299928.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

İsim Soyisim : HABİP SACILIK
Doğum Tarihi : 0000-00-00
Doğum Yeri : ADIYAMAN
Telefon : 0500 000 00 00
E-Posta : habipss02@gmail.com

EKLER

EK 1

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 24021 proje numarası ile desteklenmiştir.

Proje