| | | | |
|---|---|---|---|
| AYŞE, EKİNCİ YILDIZ | DİCLE ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST. | DOKTORA TEZİ | DİYARBAKIR-2022 |

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**
**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# KOYUNLARDA KAZEÖZ LENFADENİTİSİN MOLEKÜLER VE ELISA YÖNTEMİYLE KARŞILAŞTIRMALI TEŞHİSİ

Veteriner Hekim Ayşe EKİNCİ YILDIZ

DOKTORA TEZİ

VETERİNER İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hasan İÇEN

DİYARBAKIR- 2022

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**
**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# KOYUNLARDA KAZEÖZ LENFADENİTİSİN MOLEKÜLER VE ELISA YÖNTEMİYLE KARŞILAŞTIRMALI TEŞHİSİ

Veteriner Hekim Ayşe EKİNCİ YILDIZ

DOKTORA TEZİ

VETERİNER İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hasan İÇEN

DİYARBAKIR- 2022

# ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner İç Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Ayşe EKİNCİ YILDIZ'ın hazırladığı "Koyunlarda Kazeöz Lenfadenitisin Moleküler ve Elisa Yöntemiyle Karşılaştırmalı Teşhisi" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof.Dr. Hasan İÇEN _____

| **JüriÜyeleri** | | İmza |
|---|---|---|
| JüriBaşkanı | ..... | _____ |
| Üye | ..... | _____ |
| Üye | ..... | _____ |
| Üye | ..... | _____ |
| Üye | ..... | _____ |

Tarih: …./…/201…

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim kurulu'nun …./…/…. tarih ve …. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

…../…../……

Prof. Dr. Mahmut BALKAN
DicleÜniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**
**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalrında etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

08/05/2022
Ayşe EKİNCİ YILDIZ
İmza

# TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın bütün aşamalarında, değerli bilgi birikimini ve zamanını esirgemeyen, bana rehberlik eden danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hasan İÇEN'e, çalışma süresince destek ve yardımlarını gördüğüm değerli hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Aynur ŞİMŞEK'e ve Sayın Dr.Öğr.Üyesi Akın KOÇHAN'a, değerli zamanlarını ayırarak PCR analizlerini yapmamda bana destek olan Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi hocam Sayın Doç. Dr. İbrahim Halil YILDIRIM'a ve Dr.Fatih ÇAKIR'a, ELISA analizlerini yapmamda bana destek olan Veteriner Hekim Nurettin IŞIK'a, manevi desteklerinden ötürü değerli arkadaşlarım Öğr. Görevlisi Ömer Faruk KATANALP'a, Arş. Görevlisi Nazan BAKSİ'ye, Arş. Görevlisi Elif EKİNCİ'ye, bütün eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi tüm desteğini esirgemeyen aileme ve sevgili eşim Mehmet Mirzad YILDIZ'a, bu çalışmaya Veteriner.19.012 nolu proje ile maddi destek sağlayan Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Saygı ve sevgilerimle…

# İÇİNDEKİLER

**BEYAN** ..... **I**
**TEŞEKKÜR** ..... **II**
**İÇİNDEKİLER** ..... **III**
**KISALTMALAR ve SİMGELER** ..... **V**
**RESİMLER LİSTESİ** ..... **VI**
**TABLOLAR LİSTESİ** ..... **VII**
**1.ÖZET** ..... **1**
**1.1. TÜRKÇE ÖZET** ..... **1**
**1.2. ABSTRACT** ..... **2**
**2. GİRİŞ ve AMAÇ** ..... **3**
**3.GENEL BİLGİLER** ..... **5**
3.1.Tanım ..... 5
3.2. Tarihçe ..... 5
3.3. Etiyoloji ..... 5
3.4. Bulaşma ..... 7
3.5. Patogenez ..... 9
3.6. Klinik Bulgular ..... 12
3.7.Kazeöz Lenfadenitisin Histopatolojik Lezyonları ..... 14
3.8. Tanı ..... 15
3.8.1 Bakteriyolojik tanı ..... 15
3.8.2 Serolojik tanı ..... 16
3.8.3 Genomik tanı ..... 18
3.9.Ayırıcı Tanı ..... 19
3.10.Sağaltım ..... 19
3.10.1. Antibakteriyel sağaltım ..... 19
3.10.2.Cerrahi sağaltım ..... 20
3.10.3. Alternatif sağaltım ..... 21
3.11. Koruma ..... 22
3.12. Aşılama ..... 22
3.12.1. Bakterin aşıları ..... 23

3.12.2 Toksoid aşılar ..... 23
3.12.3. Kombine aşılar ..... 23
3.12.4. Canlı aşılar ..... 24
3.12.5 Ticari aşılar ..... 24
**4.GEREÇ VE YÖNTEM ..... 25**
4.1.Gereç ..... 25
4.1.1. Hasta materyali: ..... 25
4.1.2. Kullanılan cihazlar ve kimyasallar ..... 25
4.2. Yöntem ..... 27
4.2.1. Klinik muayene ..... 27
4.2.2. Örneklerin alınması ..... 27
4.2.2.1. Kan örneklerinin alınması ..... 27
4.2.2.2. Swap örneklerinin alınması ..... 27
4.2.3. Yapılan laboratuvar analizleri ..... 28
4.2.3.1. Bakteriyolojik analizler ..... 28
4.2.3.1.1 İzolasyon ve identifikasyon çalışmaları ..... 28
4.2.3.1.2.Direk mikroskobik (Gram boyama) ..... 28
4.2.3.2. ELISA ..... 29
4.2.3.3.PCR ..... 29
4.2.4. İstatiksel Analizler ..... 33
**5.BULGULAR ..... 34**
5.1.Klinik muayene bulguları ..... 34
5.2.Bakteriyolojik bulgular ..... 36
5.3. ELISA bulguları ..... 37
5.4. PCR bulguları ..... 38
**6. TARTIŞMA ..... 42**
**7. SONUÇ ve ÖNERİLER ..... 48**
**8. KAYNAKLAR ..... 50**
**9. ÖZGEÇMİŞ ..... 65**
**10. ORİJİNALLİK RAPORU ..... 66**

## KISALTMALAR ve SİMGELER

| | |
|---|---|
| µ l | : Mikrolitre |
| bç | : Baz çifti |
| ml | : Mililitre |
| µm | : Mikrometre |
| KLA | : Kazeöz Lenfadenitis |
| FLD | : Fosfolipaz D |
| NaCI | : Sodyum Klorür |
| PCR | : Polimeraz Chain Reaction |
| RNA | : Ribo Nükleik Asit |
| ELISA | : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay |
| AGID | : Agar Jel İmmuno Difüzyon Testi |
| SHI | : Sinerjistik Hemoliz İnhibisyon Testi |
| IHA | : İndirekt hemaglütinasyon |
| CMNR | : Corynebacterium Mycobacterium Nocardia Rhodococci |
| BHI | : Brain Heart Infusion |
| CAMP | : Christie-Atkins-Munch-Petersen |
| INF | : Gama İnterferon |
| TNF-α | : Tümör Nekroz Faktör |
| IL | : İnterlökin |
| IL-6 | : İnterlökin 6 |
| IL-1β | : İnterlökin 1 Beta |
| NK | : Doğal Öldürücü Hücre |
| APDT | : Antimikrobiyal Foto Dinamik Tedavi |
| LFIT | : Lateral Flow İmmunokromatografik Test |
| AgNP | : Gümüş Nano Partikül |

# RESİMLER LİSTESİ


| | | Sayfa No |
|---|---|---|
| **Resim 1**. | Submandibular lenf yumrusu…… | 35 |
| **Resim 2**. | Parotis ve preskapular lenf yumrusu…… | 36 |
| **Resim 3**. | Parotis lenf yumrusunda apse…… | 36 |
| **Resim 4**. | Nekropsi bulguları…… | 36 |
| **Resim 5**. | Nekropsi bulguları…… | 37 |
| **Resim 6.** | PCR elektroforez görüntüsü …….. | 39 |

# TABLOLAR LİSTESİ


| | | Sayfa No |
|---|---|---|
| **Tablo 1.** | Genel *C. peudotuberculosis* primerleri…….....…..……. | 32 |
| **Tablo 2.** | PCR ısı döngüsü ……..... | 32 |
| **Tablo 3.** | PCR Mix……..... | 32 |
| **Tablo 4.** | Laboratuvar bulguları……..... | 33 |
| **Tablo 5.** | Yüzeysel lenf yumrularında dağılım…… | 37 |
| **Tablo 6.** | Kültür Sonuçları…….. | 38 |
| **Tablo 7.** | Bakteriyolojik bulgular …….. | 38 |
| **Tablo 8.** | ELISA Sonuçları……. | 38 |
| **Tablo 9.** | PCR Sonuçları …… | 39 |
| **Tablo 10 a.** | KLA enfekte koyunlara ait 90 adet materyalin laboratuvar bulguları….. | 39 |
| **Tablo 10 b.** | KLA enfekte koyunlara ait 90 adet materyalin laboratuvar bulguları….. | 40 |
| **Tablo 10 c.** | KLA enfekte koyunlara ait 90 adet materyalin laboratuvar bulguları….. | 41 |

**Koyunlarda Kazeöz Lenfadenitisin Moleküler ve Elisa Yöntemiyle Karşılaştırmalı Teşhisi**

**Öğrencinin Adı Soyadı:** Ayşe EKİNCİ YILDIZ

**Danışmanı:** Prof. Dr. Hasan İÇEN

**Anabilim Dalı:** İç Hastalıkları Anabilim Dalı

# 1.ÖZET

## 1.1. TÜRKÇE ÖZET

**Amaç:** Bu çalışma; Diyarbakır yöresindeki koyunlarda Kazeöz Lenfadenitis (KLA)'in etiyolojik ajanı olan *Corynebacterium pseudotuberculosis (C. pseudotuberculosis)*'in Polymerase Chain Reaction (PCR), Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) ve bakteriyolojik kültür yöntemlerinin kullanılarak tanısının ortaya konulması, izolasyon bulguları ile testlerin spesifite ve sensitivitelerinin belirlenmesi ve böylece hastalığın rutin teşhisinde kullanılabilirliklerinin ortaya konulması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma materyali; Diyarbakır merkez ve çevre ilçelerinde bulunan 2650 koyun farklı sürelerde değerlendirildi. Klinik olarak yüzeysel lenf yumrularından bir veya birkaçı apseleşmiş 90 koyun çalışma kapsamına alındı. Kan örnekleri ve apse içeriğinden swap örnekleri alındı. Etkenin tanısı için, swap örneklerinden bakteriyolojik kültür ve PCR analizleri, kan örneklerinden ise ELISA analizleri yapıldı.

**Bulgular:** Diyarbakır yöresindeki koyunlarda PCR analizlerine göre 26 (%28,8) pozitif, 64 (%71,1) negatif, ELISA analizinde 17 (%18,8) pozitif, 73 (%81,1) negatif ve baktriyolojik kültürde 12 (%13,3) *C. pseudotuberculosis* izole edilirken, 16'sından *Staphylococcus aureus (S. aureus)*, 8'inde *Streptococ spp*.ve 6'sında *Escherichia coli (E. coli)* kolonileri görüldü ve 48 (%53,3) kültürde hiç üreme olmadı.

**Sonuç:** Klinik örneklerde PCR'ın *C. pseudotuberculosis*'in tanısında Diyarbakır yöresindeki koyunlarda Kazeöz lenfadenitis enfeksiyonunun mevcut olduğu semptomatik koyunların %28,8'inde PCR ile *C. pseudotuberculosis* DNA'sı saptandı.

**Anahtar Sözcükler:** *Corynebacterium pseudotuberculosis,* Kazeöz Lenfadenitis, Koyun, PCR

**Comparative Diagnosis of Caseous Lymphadenitis in Sheep by Molecular and ELISA Method**

**Student's Surname and Name:** Ayşe EKİNCİ YILDIZ

**Advisor of TheThesis:** Prof. Dr. Hasan İÇEN

**Department:** Department of Internal Medicine

## 1.2. ABSTRACT

**Aim:** This work; Diagnosis of Corynebacterium pseudotuberculosis (C. pseudotuberculosis), which is the etiological agent of Caseous Lymphadenitis (CLA) in sheep in Diyarbakir region, using Polymerase Chain Reaction (PCR), Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) and bacteriological culture methods, isolation findings and tests. It was aimed to determine the specificities and sensitivities of the disease and thus to demonstrate their usability in the routine diagnosis of the disease.

**Material and Methods:** The study material consisted of 2650 sheep in the central and surrounding districts of Diyarbakır. 90 sheep with clinically one or more abscessed superficial lymph nodes were selected. Swap samples were taken from blood samples and abscess contents. For the diagnosis of the agent, bacteriological culture and PCR analyzes were performed on swap samples and ELISA analyzes on blood samples.

**Results:** According to PCR analysis of sheep in Diyarbakır region 26 (28,8%) positive, 64 ( 71.1% ) negative, ELISA analysis 17 (18,8% ) positive, 73 (81,1% ) negative and while 12 (13.3%) *C. pseudotuberculosis* was isolated in bacteriological cultures, *staph* of 16 were isolated from *streptococ* in 8 and *e.coli* in 6 of them. It was determined that 48 (53.3%) negativities were detected.

**Conclusion:** It was concluded that PCR in clinical samples was more efficient, reproducible and faster than ELISA and microbiological culture in confirming C. pseudotuberculosis. It was revealed that caseous lymphadenitis infection was present in sheep in Diyarbakir region, and 28,8% positivity was detected in sheep with clinical symptoms according to PCR analysis.

**KeyWords:** *Corynebacterium pseudotuberculosis*, Kazeöz Lenfadenitis, Sheep, PCR

## 2. GİRİŞ ve AMAÇ

Kazeöz lenfadenitis (KLA), *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. pseudotuberculosis*) tarafından meydana getirilen ve lenf yumrularını etkileyen kronik ve zoonoz bir hastalıktır (1-4).

Eksternal (yüzeysel) ve internal (visseral) olmak üzere iki formda görülen kazeöz lenfadenitis; eksternal formda yüzeysel lenf yumrularında, internal formda ise iç organlar ile bunlara ait lenf yumrularında pyogranülomlu apselerin varlığı ile karakterize edildiği bildirilmektedir (5-7). Yüzeysel formda; parotis, submandibular ve presukapular lenf yumrularının irinli apseye dönüşmesinden sonra zamanla apselerin büyümesiyle dışarıya doğru fistül oluşmasından dolayı ‘’çatlak’’ olarak da bilinen hastalık, iştahı yerinde olmasına ve parazit enfestasyonu bulunmamasına rağmen zamanla oluşan aşırı kilo kaybı nedeni ile ‘’Thin Ewe Sendrom’’ (zayıf koyun sendromu) ve ‘’cheesy gland ‘’ (peynirli bez) olarak da adlandırılmaktadır (2, 4, 5). Viseral form ise, iç organlar ve onlara bağlı lenf yumrularında oluşan apselerle ilişkilidir. Lezyonlar karaciğer, böbrekler, meme ve daha nadiren de kalp, testis, skrotum, uterus, eklemler, beyin veya omurilikte de bulunabilir (5). Hastalık, döl veriminin düşmesine, deri ve yapağı kalitesinin bozulmasına, et ve süt veriminde azalmaya ayrıca pnömoni, mastitis, artritis ve orşidise neden olur (1,3,6). Etkenin, koyun ve keçiler başta olmak üzere; sığır, manda, at, geyik, domuz, kirpi, lama, deve, alpaka, laboratuvar hayvanları ve insanlardan da izole edildiği bildirilmektedir (1,5,7,8).

*C. pseudotuberculosis*; sahip olduğu Fosfolipaz D (PLD) ekzotoksini ve mikolik asit tabakası sayesinde immun sistem hücreleri tarafından yok edilememekte ve apse odaklarında kapsül oluşturması nedeniyle antibiyotik tedavilerinden yeterli başarı sağlanamamaktadır. Hastalığın kronik olması ve çoğunlukla subklinik seyretmesi nedeniyle dünyanın birçok ülkesinde kontrol önlemlerinin uygulanması yetersiz olmuş veya hiç uygulanmamıştır. Bu durum hastalık insidansında sürekli bir artışa neden olmuştur (9-13).

Antibiyotiklerle tedavi şansının düşük olması ve subklinik seyreden enfekte hayvanların belirlenmesindeki sınırlamalar nedeniyle hastalığın yaygın olarak

görüldüğü ifade edilmiştir (3). Bu nedenle profilaktik ve terapötik tedavinin sürüleri hastalıktan tam olarak korumadığı ve enfekte hayvanların rezervuar görevi gördüğü bildirilmiştir (14). Bu özelliklerinden dolayı *C. pseudotuberculosis*'in neden olduğu sürü enfeksiyonları için genellikle 'eradike etmek' yerine 'mücadele etmek' terimi kullanılmaktadır (5). Nadiren de ölüme sebep olduğu ve etkenin çevre şartlarında uzun süre canlı kalabildiği bildirilmektedir (2,5).

Farklı ülkelerdeki epidemiyolojik araştırmalarda hastalığın Avrupa, Afrika, Orta Doğu, Avustralasya ile kuzey ve güney Amerika'nın çoğunda yaygın olduğu bildirilmektedir (1,8,15,16,17). Mısır'da KLA'ya yönelik yapılan araştırmalara göre koyun popülasyonunun yaklaşık %10'u enfeksiyondan etkilenmekte ve bu durumun ülke ekonomisini yaklaşık 1,7 milyon dolar zarara uğrattığı bildirilmektedir (2). Avusturalya'da 1992'deki hastalık varlığı ve yün üretim verilerine dayanarak yapılan araştırmalarda, KLA enfeksiyonunun koyun endüstrisine, yün üretiminde yılda yaklaşık 17 milyon dolar kayıba neden olduğu tahmin edilmiştir (18).

Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda KLA enfeksiyonunun koyun sürülerinde yaygın olduğu bildirilmektedir (2,6,19,20). Bununla birlikte yapılan mezbaha bazlı araştırmalarda, KLA'nin küçükbaş hayvanlar arasında, özellikle koyunlarda %16 ila %63 arasında değişen oranlarda yaygın olduğu bildirilmiştir (19).

Bu çalışma; Diyarbakır yöresindeki koyunlarda KLA'in etiyolojik ajanı olan *C. pseudotuberculosi* 'in bakteriyolojik kültür, PCR ve ELISA teknikleri kullanılarak tanısının ortaya konulması, izolasyon bulguları ile testlerin spesifite ve sensitivitelerinin belirlenmesi ve böylece hastalığın rutin teşhisinde kullanılabilirliklerinin ortaya konulması amaçlandı.

# 3.GENEL BİLGİLER

## 3.1.Tanım

Kazeöz lenfadenitis; dünya genelinde yaygın olarak görülen *C. pseudotuberculosis*'in neden olduğu çok sayıda memeli türünün özellikle de küçük ruminantların lenf yumrularında piyogranülomlu apselerin gelişmesiyle karakterize kronik ve zoonoz bir hastalıktır (3-9). Hastalık koyun ve keçilerde yüzeysel ve visseral olmak üzere iki farklı formda ortaya çıkmaktadır. Hayvanların bir defa enfekte olmasıyla birlikte hastalığın aynı hayvanda genellikle aylar veya yıllar sonra tekrar nüks edebileceği bildirilmiştir (5).

## 3.2. Tarihçe

*C. pseudotuberculosis* 1888 yılında Fıransız bir veteriner hekim olan Edward Nocard tarafından lenfadenitisli bir vakadan izole edilmiştir. Daha sonra Bulgar bakteriyolog Hugo Von Preisz 1891 yılında bir koyunda böbrek apse kültürlerinden benzer bir organizma izole etti. 19. yüzyılın sonlarına doğru bakteri, basillus pseudotüberküloz olarak isimlendirildi. Alman bakteriyologlar Lehmann ve Neumann tarafından bakteriyolojik atlaslarının ilk baskısında tanımlandı. 1923 yılında Bergey's tarafından yayınlanan Manual of Determinati and Bacteriology'nin ilk baskısında etken insanlar için patojen olan *Corynebacterium dphteria* içine dahil edildi. Daha sonra *C. pseudotuberculosis*'in morfoloji ve hücre duvarı yapısının *C. diphteriae* benzediğini gösteren çalışmalara atıfta bulunarak etkenin adını *Corynebacterium ovis* olarak değiştirdi. Bu hastalık keçiler, atlar, insanlar ve diğer birçok memeli türünde irinli enfeksiyonlar ve ülserativ lenfadenitislerden izole edilmiştir. 1948 yılında *C. pseudotuberculosis* adıyla resmi olarak tanınmıştır (1,4,5-7,10-12).

## 3.3. Etiyoloji

*C. pseudotuberculosis,* gram pozitif, pleomorfik, hareketsiz, kapsülsüz ve sporsuz bir bakteridir. Hücre içi patojen olan etken 0,5-0,6 µm eninde ve 1,0-3,0 µm arasında değişebilen uzunlukta olabilir. Hücre duvarı peptidoglikan, mezodiaminopimelik asit (mezo-DAP) arabinoz ve galaktoz şekerlerinden

oluşmaktadır. Bununla birlikte kısa zincirli mikolik asitte bulunduğu ifade edilmiştir (3,8,21)

*C. pseudotuberculosis*, 37 °C'de aerobik veya anaerobik koşullar altında pH 7.0 ile 7.2'de gelişmektedir. Serum veya kanlı agarda 48-72 saatlik inkübasyondan sonra bakteri kolonilerinin etrafında zayıf bir beta-hemoliz bandı oluşma eğilimi gösterir. Sıvı ortamda ise, yüzey biyofilm olarak üreme gösterir. Bu film çalkalandığında parçalanan pullar bir çökelti oluşturur. Film oluşumun, yüzey lipitlerine bağlı olduğu ve hücre zarındaki bu lipitlerin miktarının doğrudan biyofilmin kalınlığı ve bakteri suşunun virülansıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (4,5). *C. pseudotuberculosis* biyokimyasal olarak, gaz üretemezken, asit üretmek için glikoz, fruktoz, maltoz, mannoz ve sakaroz kullanır. Laktozu fermente etmez, proteolitik aktivite içermez, jelatini hidrolize etme veya kazeini sindirme kabiliyeti yoktur (4,13). 48 saat boyunca katı besi yerinde inkübasyondan sonra 1-2 mm çapında kuru, soluk sarı koloniler oluşturur. 24 saat inkübasyondan sonra küçük sarımsı koloniler halinde, 48 saat sonra ise bu koloniler 1-2 mm'lik bir çapta görünür. Basil, içinde daha çok uç kısımlara dağılmış ve anilin boyalarla koyu renkte boyanan granüllere sahiptir. ''Metakromatik cisimcikler'' ya da ''Babes-Ernest cisimcikler'' olarak adlandırılan bu cisimcikler, basile tesbih tanesi görünümü verir. Aside karşı dirençli değildir (5-8).

*C. pseudotuberculosis* 'in iki alt tipi bilinmektedir; bunlar biovar ovis ve biovar equi'dir (22). Biovar equi atları ve sığırları etkilerken biovar ovis küçük geviş getirenleri etkiler. Bu alt türleri ayırt etmek için nitratı azaltma yeteneklerine bakılır. Biovar equi nitratı azaltabilirken biovar ovis'in böyle bir özelliği yoktur (23). Nitrat redüktaz varlığı nedeniyle, biovar equi oksijen yokluğunda nefes alma kabiliyetiyle hayatta kalabilir. Öte yandan, nitrat redüktaz içermeyen biovar ovis ise, çeşitli ekolojik durumlara uyum sağlayabildiği ve belirli karbon kaynaklarında üreyebildiği bildirilmektedir (5,13). Biovar ovis koyun ve keçileri etkileyerek yüzeysel (superficial) ve visceral apselere neden olurken, biovar equi; atları etkiler ve distal ekstremitelerde ülseratif lenfanjenite, abdomen ile toraksta ventral apselere ve frunkulazis'e neden olduğu bildirilmiştir (23,24).

*C. pseudotuberculosis*'in kanlı agar, Brain Heart Infusion (BHI) agar, et suyu veya hayvan serumu ile zenginleştirilmiş besi yerlerinde iyi üreme sağladığı

bildirilmektedir. Bakterilerin hemoliz etme yeteneği kanlı agar besi yeri kullanılarak test edilebilmektedir (3,12,25)

*C. pseudotuberculosis* PLD toksini *Rhodococcus equi* (*R. equi)'nin* ürettiği fosfolipaz C ile sinerjistik olarak etkilenir ve özellikle % 4 defibrine koyun kanı içeren kanlı agarda eritrositleri hemoliz ederek koloni etrafında hemolitik alan oluşturmaktadır. Buna karşın *S. aureus*'un β-hemolizin ile antogonistik ilişki içerisine girerek hemoliz özelliği engellenmektedir (6,13,26).

*C. pseudotuberculosis,* Corynebacterium cinsine, Corynebacteriacea eailesine bağlı Corynebacterineae'ye, Actinobakteridia sınıfına bağlı Aktinomiketler sınıfına aittir. Corynebacterium cinsi, aynı zamanda Mycobacterium, Nocardia ve Rhodococcus (CMNR) cinslerini de içeren bir aktinomiset grubuna aittir. CMNR grubu olarak adlandırılan bu gram pozitif bakteriler oldukça heterojen bir grup oluşturur; ancak türlerin çoğu esas olarak peptidoglikan, arabinogalaktan ve mikolik asitlerden oluşan büyük bir polimer kompleksinin varlığı ile karakterize edilen spesifik bir hücre duvarı organizasyonuna sahiptir (4,8,27).

### 3.4. Bulaşma

C. *pseudotuberculosis* vücuda deri veya mukoza zarındaki küçük yaralar ve sıyrıklar yoluyla girer, sağlam deriden de geçebildiği bildirimektedir (1,5,7). Etken vucuda girdikten sonra inkubasyon süresi 2 ile 6 ay arasında değiştiği bildirilmiştir (6).

Enfeksiyonun ana kaynağı; klinik veya subklinik olarak enfekte taşıyıcı bir hayvanın hastalık olmayan bir sürüye katılmasıyla olduğu bildirilmiştir (8). Bu enfekte hayvanların burun salgıları, dışkıları ve apselerinden akan irinle, yemlikleri, suyu ve otlakları kontamine etmesiyle bulaşmanın olduğu ifade edilmektedir (10,28). Eksternal apselerin (parotis, submandibular, retrofarengeal ve presukapular lenf yumruları) zamanla şişmesi ve büyümesiyle apseler açılır. Apselerin içindeki pürülan içerik, canlı bakteri ihtiva eder ve apselerin açılmasıyla bitişik deri ve yapağı üzerine çok sayıda canlı bakteri bulaştırır. Bu durumun hayvanlar arasında fiziksel temas veya dolaylı olarak kontamine malzemeler yoluyla çapraz enfeksiyonunun önemli bir kaynağı olduğu bildirilmiştir (1,28). Ayrıca yeni doğan kuzuların göbek kordonundaki yaradan da bulaşma olduğu ileri sürülmüştür (5).

Çiftlik çalışanlarının kullandıkları kırkım makinası, kulak küpeleme pensleri

ve kastrasyon alet ekipmanları ve damgalama işlemleri ile aynı sürü içindeki hayvanlar arasında etkenin bulaşmasında önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (11,14,29). Bununla beraber hastalığın bulaşmasının %85'nin ikinci ya da üçüncü kırkım sırasında oluşan yaralardan gerçekleştiği ve ektoparazit mücadelesi için ilaçlı havuzlarda etkenin 24 saat canlı kalabilmesinden dolayı bulaşmada önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Etkenin nemli deriye nüfus etmesinden dolayı, deride herhangi bir yara olmamasına rağmen hastalığın bulaşmasına sebep olabileceği bildirilmektedir (7,28,30).

KLA ile enfekte koyun sürülerinde, solunum yollarındaki özellikle de akciğerlerinde lezyon şekillenen hayvanların diğer sağlıklı hayvanlar için enfeksiyon kaynağı olabileceği bildirilmektedir (10,31). Ek olarak, *C. pseudotuberculosis'*in, akciğer lezyonlarından gelen ve solunum yolu ve organlarına geçen akıntıyla bulaştığını doğrulayan pulmoner apseli koyunların trakealarından da izole edildiği bildirilmektedir (31,32). Nadirende olsa pulmoner lezyonlara sahip koyunların akciğerlere bağlı lezyonlarda gelişen apselerin açılmasıyla birlikte dışarı sızan irinli içeriğin öksürme yoluyla etraflarındaki diğer koyunların deri yüzeyindeki kesik ve yaraların üstüne öksürmesi yoluyla bulaşamanın olabileceği bildirilmiştir (4,11,32).

Koyunlarda intratrekeal yolla yapılan deneysel araştırmalarda etkenin akciğerlerde lezyonlara yol açtığı ifade edilmesine rağmen esas bulaşmanın medinastinal lenf yumrularında olduğu ileri sürülmüştür (1).

Bilinen bulaşma yollarının dışında deneysel olarak yapılan araştırmada oral, intra nazal, intratrakeal, intravenöz ya da intra vajinal yolla bulaştığı ifade edilmektedir (33,34,35).

Bununla birlikte *C. pseudotuberculosis*'in deri altı bulaştırılması ile akciğerler ve mediastinal lenf düğümleri da dahil olmak üzere ilk bulaştırılma bölgesinden farklı bölgelerde çoklu enfeksiyon odaklarının oluşmasıyla sonuçlandığı belirtilmektedir (1,36).

*C. pseudotuberculosis* odun, saman, ağılda kullanılan malzemeler ve dışkı gibi partiküllü cisimlerde uzun süre canlı kalmaya devam eder. Saman ve odun gibi cisimlerde 8 hafta ila 4 ay arasında canlı kalırken toprak örneklerinde ise 8 aya kadar canlı kalabildiği ifade edilmiştir (30,37,38). Dış ortamda canlı kalma süresinin gölgelik ortamlar, nemli koşullar ve düşük sıcaklıklarda arttığı bildirilmektedir (5,7).

İnsektisitlerin hem mekanik hem de biyolojik vektör olarak *C. pseudotuberculosis'*in bulaşmada rol aldığı bildirilmiştir. Aynı zamanda etken mastitisli ineklerin sütü ile kontamine olmuş sineklerden de izole edildiği bildirilmektedir (39,40,41).

KLA'nın zoonoz bir hastalık olması nedeniyle veteriner hekimler, kasaplar ve yardımcılarının yanı sıra çiftlik çalışanlarında da görülebildiği bildirilmektedir (4,11). İlk insan vakasının 1966 yılında 37 yaşında Panama'da yaşayan bir erkeğin kasığında lenfadenopati görüldüğü bildirilmiştir (42). 1966 yılından 2008 yılına kadar 42 yıllık dönemde sadece 33 insan vakası rapor edildiği ifade edilmiştir (13). *C. pseudotuberculosis'*in moleküler yapısı ile ilgili yapılan bir araştırmada bilinen yolların dışında labaratuvar çalışanına aerosol yolla bulaştığı ve pneomoniye yol açtığı bildirilmiştir (43). Bununla birlikte insanlarda ölümcül enfeksiyonların olduğuna ilişkin literatür bilgiye rastlanmamıştır.

### 3.5. Patogenez

Koyunlarda KLA, genellikle oral, nazal ve oküler mukozadan veya deri yaraları yoluyla yara enfeksiyonu ile başlar daha sonra lenfatik ve hematojen yolla yayılma gösterir. Etken daha sonra serbestçe veya makrofajlar içinde, öncelikle afferent lenfatik sistem yoluyla lokal lenf düğümlerine girer, oradan da iç organlara yayılırlar (2,5,12).

*C. pseudotuberculosis* nötrofiller ve makrofajlar gibi fagositik hücreler tarafından yakalandıktan sonra, fagozom ve lizozom aktiviteleri birleşerek fagolizozomu oluştururlar. Ancak, *C. pseudotuberculosis*, yetenekli fakültatif bir hücre içi patojen olmasından dolayı makrofajlar içinde 48 saatten fazla hayatta kalabilirler. Bu durumun *C. pseudotuberculosis*'in hücre duvarındaki mikolik asit ve makrofajlar tarafından nitrik oksit üretimini zayıflatan diğer antijenik bileşenler ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Fagositler ve makrofajların ölümüne yol açan bakteriler ortama salınır (11,13,44).

Enfeksiyonun ilk dönemi 1 ile 4 gün sürer. Bulaşma yerinde nötrofillerin birikmesi ve etkenin çoğalarak pyogranuloma oluşturması ile 5 ile 10 gün arasında olduğu bildirilmiştir (2,43,45)

Burada çok sayıda mikroskobik piyogranülom gelişir, boyut olarak büyür ve daha büyük apseler oluşturmak için birleşir. Yapılan bir araştırmada bakterilerin subkutan aşılamasından birkaç saat sonra enfeksiyon bölgesinin radyoizotopik ve sintigrafik görüntülemeyle izlenmesinin ardından, çok sayıda nötrofillerin, enfeksiyondan sonraki ilk birkaç saat için bölgede görüldüğü ve buradan 24 saat içinde lokal lenf yumrusuna geçmeye başladığı belirtilmiştir (5,7,46). Nötrofillerin üçüncü gün sonunda azalmaya başladığı ve bulaşma bölgesindeki makrofajların sayısında ise önemli ölçüde artış gözlemlendiği bildirilmiştir (1). Nötrofillerdeki kemotaksisin, PLD enzimi tarafından engellendiği, böylece enfeksiyonun erken evresinde *C. pseudotuberculosis*'in makrofajlar içinde replike olma ve yayılma yeteneğinin arttığı bildirilmektedir (5,11,46).

Makrofajlar içindeki kontrol edilemeyen bakteri büyümesinin sonucunda savunma hücreleri, enfekte hücrelerin kapsüllenmesi yoluyla oluşan piyogranülomlarla enfeksiyonu sınırlamaya çalışır (13). Oluşan piyogranülomlar bakteri kümeleri ve hücresel kalıntılar ve yüksek oranda eozinofil içermesi nedeniyle pürülan içeriğe karakteristik bir yeşil renk verdiği bildirilmektedir. Bulaşma bölgesindeki hücresel yanıta eş zamanlı olarak, nötrofillerinninfiltrasyonu azalırken, monositler veya makrofajlarınenfekte olmuş lenf yumrusunda baskın hücre tipi haline geldiği bildirilmektedir. Apse içeriği başlangıçta yumuşaktır ve ilerledikçe giderek daha katı hale gelir; daha sonra mineralleşme başlar ve kalsifiye odaklar, eş merkezli katmanlar oluşturarak bir soğanın enine kesit görünümüne benzer olarak tanımlanan lamelli bir görünüme sahip olduğu ve bu lezyonların "soğan halkası" olarak hastalığın karakteristik bir bulgusu olduğu bildirilmiştir (1,10,12).

Makrofajların yanı sıra T lenfositlerin de *C. pseudotuberculosis*'e karşı savunmada önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (13). *C. pseudotuberculosis'e* karşı bağışıklık tepkisi hem hümoral hem de hücresel mekanizmalar içermesi açısından kopleks bir yapıya sahip olduğu bilinmektedir (47). Yapılan bir araştırmada, *C. pseudotuberculosis* enfeksiyonuna karşı direnç için gerekli olan sitokin ve hücresel yanıtın karmaşıklığını ortaya çıkarmış ve ikinci defa meydana gelen enfeksiyona karşı direncin birden fazla yoldan oluşabileceği bildirilmiştir (45). TNF-α, *C. pseudotuberculosis'*e karşı bağışıklıkta önemli bir faktör olarak kabul edilmiştir (44). *C.pseudotuberculosis* enfeksiyonuna karşı konak savunmasının geliştirilmesi için

TNF-α ve IFN-y'nin her ikisinin de gerekli olduğu ifade edilmiştir (49). *C. pseudotuberculosis'in*fakültatif hücre içi doğası nedeniyle, gama-interferon ve diğer sitokinlerin üretimi enfeksiyonu kontrol etmeye yardımcı olur Hümoral bağışıklık tepkisinin enfeksiyondan 6 ila 11 gün sonra IFN- γ'nın önemli ölçüde arttığı görülmüştür (48). TNF-α ve IL-6 gibi inflamatuar sitokinler esas olarak aşılama yerinde üretilirken, T hücresi ile ilişkili IFN-γ gibi sitokinler, başlıca drenaj lenf düğümlerinde üretildiği bildirilmektedir (49,50). Ayrıca *C. pseudotuberculosis*, steroidal hormon dengesizliklerinden de sorumludur (34).

*C. pseudotuberculosis*, fagositozdan canlı kurtulma ve diğer bölgelere yayılma yeteneğini arttıran iki ana virülans faktöre sahiptir. Birincisi Fosfolipaz D adı verilen bir ekzotoksin, ikincisi ise mikolik asittir (1-7,9,50).

Fosfolipaz D (PLD), *C. pseudotuberculosis* tarafından üretilen güçlü bir ekzotoksindir ve bu bakteri için başlıca virülans faktörü olarak kabul edilmiştir (4). Fosfolipaz adı, gliserofosfolipidlerde bir veya daha fazla ester bağını hidrolize edebilen çeşitli bir enzim grubunu tanımlamak için kullanılır. A-D sonları, fosfolipazları ayırmak ve bölünen spesifik fosfolipid ester bağını belirtmek için kullanılır (5).

*C. pseudotuberculosis*'in daha çok sitoplazmasından ve aynı zamanda hücre duvarından da sentezlenen PLD'nin eritrositler üzerinde hemolitik, makrofajlar üzerinde ise stotoksik özelliğe sahiptir. PLD 'nin asidik pH, ısı ve formol ile inaktive edilebildiği bildirilmektedir (2,6,13).

PLD enzimi; sfingomiyelinin hidrolizi ile ortaya çıkan vasküler endotel membran geçirgenliğinde artışa neden olarak etkenin enfeksiyon bölgesinden itibaren konakçının tüm vücut dokularına geçmesini sağlayan bir geçirgenlik görevi görür. Artan bu geçirgenlik, plazmanın kan damarlarından ve çevre dokulara ve oradan da lenfatik drenaja sızmasına neden olur (5-7,11,12,51). Bununla birlikte PLD endotel hücrelerinin dermonekrozuna neden olur ve bu özellik, *C. pseudotuberculosis*'in dermis tabakasından küçük kan damarlarına geçişini sağlayarak lenfatik damarlara geçişini sağlamaktadır (4,13,52,53).

*C. pseudotuberculosis*'in mutant suşlarının lenf yumrularında apseye neden olmadığı ve KLA'nın oluşumu için PLD ekzotoksininin gerekli olduğu bildirilmiştir (54).

Bir diğer virulans faktör olan mikolik asitler, ilk olarak 1939'da tüberkül basilinde tanımlandı ve daha sonra aktinomiset ailesinin ortak bir özelliği olarak kabul edilmiştir (5). *C. pseudotuberculosis*'in mumsu mikolik asit tabakası, organizmaya lizozomlarda bulunan hidrolitik enzimlerden mekanik ve biyokimyasal olarak koruma sağlar, bu da bakterinin hayatta kalmasını ve fakültatif hücre içi patojen olarak konakta canlı kalmasını sağladığı bildirilmiştir (51,55,56). Bunun yanısıra mikolik asitler dejeneratif reaksiyonları başlattığı ve lökosit ölümünü de uyardığı ifade edilmiştir (2). Mikolik asit tabakasının, *C. pseudotuberculosis*'in olumsuz koşullarda bile uzun süre hayatta kalmasına olanak sağladığı bildirmektedir (11,12).

*C. pseudotuberculosis'*in patojenitesi ve konakçının hücresel yanıtı hakkında hala bilinmeyen noktalar olduğu bildirilmektedir (2,51).

Canlı bakterilerin ilk enfeksiyondan birkaç yıl sonra apseler içinde belirgin bir uyku halinde kalmaları nedeniyle hastalığın tekrar nüks edebileceği bildirilmektedir (1,7).

*C. pseudotuberculosis* PLD'nin çeşitli biyolojik aktiviteleri ve moleküler yapısı, tıbbi açıdan önemli örümcek cinsi olan Loxosceles'in zehirindeki sfingomiyelinazlarda da bulunmuştur. Kuzey amerika kahverengi recluse örümceği olan Loxosceles Reclusa tarafından üretilen bu enzim toksinine yapısal ve biyolojik aktivitede ilginç bir benzerlik gösterdiği ifade edilmiştir (7,57). Ayrıca *C. pseudotuberculosis'in* PLD ekzotoksinleri, insanlarda difteriye neden olan *C. ulcerans*'ın aktif eksotoksini arasında %97 homoloji olduğu bildirilmektedir (58).

### 3.6. Klinik Bulgular

Klinik olarak KLA'nin yüzeysel ve visseral formuna bağlı semptomlar görülebilir. Yüzeysel formunda dışarıdan palpe edilebilen submandibular, parotis, preskapular, retrofarengeal veya meme dokusundaki lenf yumrularında oluşan apselerin büyüklükleri, sıklıkla 5 ila 15 cm çapına kadar görülebilir. KLA'nın visseral

formu ise, iç organlarda; akciğerler, karaciğer, böbrekler, dalakta ayrıca mediastinal, bronşial ve mezenteriyal lenf yumrularında oluşan lezyonlara bağlı olarak koyunlarda canlı ağırlığındaki azalmaya bağlı ‘‘Thin Ewe Sendrom’’, olarak adlandırılan zayıf koyun sendromuna neden olduğu bildirilmektedir (5,6,11,59). Daha nadir görülen tutulum yerleri ise skrotum, kalp, testis, uterus, eklemler, beyin veya omurilikte ve eklemlerdir. KLA'nın her iki formunun aynı anda görülebileceği de bildirilmektedir (7,51,60).

Hem yüzeysel hemde visseral formda apseler, zamanla gelişebilir, şişebilir ve fibröz kapsüllerle kaplanabilir . Yüzeysel formda apseleşmiş lenf yumrusunun üzerindeki yünlerin zamanla dökülmesiyle birlikte apselerde deri bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak açılmalar meydana gelebilir. Açılan apselerden kopan pürülan içeriğin, hayvanlar arasında çapraz enfeksiyonun önemli bir kaynağı olduğu bildirilmektedir (10,11,59). Bununla birlikte, bazı enfekte koyunlarda sıklıkla akciğerlerde veya mediastinal lenf yumrularında visseral apseler bulunmasına rağmen dışarıdan bir enfeksiyon belirtisinin görülmediği bildirilmiştir (13,37).

Koyunların klinik muayenesi sırasında klinik parametrelerin normal değerler gösterebileceği ifade edilmiştir (61).

Yaygın olarak mediastinal lenf düğümlerinde ve akciğer parankiminde oluşan lezyonlar bazen gangrenli pnömoniye de neden olabildiği ve öksürükle birlikte hastalığın aerosol yoluyla bulaşmasına yol açabileceği ifade edilmiştir (16,31). Bu pulmoner lezyonlar en yaygın olarak lenf düğümlerinde görülenlere benzer kapsüllenmiş apseler olarakta görülür, bazen daha kapsamlı bir bronkopnömoni de görülebilir. Ayrıca göğüs duvarı, perikardiyum veya diyaframa fibrinöz veya fibröz adezyonların gelişmesiyle sonuçlanan plörit alanlarına yol açabileceği de bildirilmiştir (5,7).

Koyunlarda mediastinal lenf düğümlerindeki apseler, boyut olarak büyüdükçe bitişik yemek borusu üzerine baskı uygulayabilir ve sonunda normal yutma ve geviş getirme hareketlerine engel olarak kronik tekrarlayan ruminal timpaniye sebep olabileceği ileri sürülmüştür (31,62).

KLA koyunlarda döl verimini de olumsuz etkiler. *C. pseudotuberculosis*'in IL-1β ve IL-6 sekresyonuna bağlı olarak yüksek olduğu görülen östrojen ve progesteron dahil olmak üzere steroidal hormon dengesizliklerinden sorumlu olduğu

bildirilmiştir (63). KLA gebe olmayan genç koyun ve kuzular üzerinde yapılan *C. pseudotuberculosis*'in deneysel intradermal enjeksiyonundan sonra üreme hormonlarında dengesizliklere bağlı cinsel olgunluğun gecikmesine ve yün üretiminin azalmasına yol açtığı bildirilmiştir (11).

KLA'nın sıklıkla kronik anemiye, akut faz proteinlerinin artmasına ve toplam proteinlerin özellikle negatif proteinler olan albümin ve globulin miktarında azalmaya sebep olduğu ve idrar biyokimya analizlerinde koyunlarda proteinürü, piürü ve bakteriyemi gözlendiği bildirilmiştir (61).

ABD'de koyun ve keçiler üzerinde yapılan bir araştırmada, koyunlarda en sık prefemoral lenf yumrusunun etkilendiğini, bunu preskapular ve ardından eşit sıklıkta diğer yüzeysel lenf yumruları izlediği bildirilmiştir. Bununla birlikte koyunlarda baş ve boyundaki lezyon oluşumunun keçilere oranla daha az oranda görüldüğü ifade edilmektedir (38,64).

Koyun ve keçilerde apseli lenf yumrusunun morfolojik görünümünde de farklılık bulunabilir. Koyunlarda bakteri yoğunluğu ve ölen fagosit hücreleri apsenin merkezini oluşturduğu için apsenin çevresi fibröz doku katmanlarından oluşur. Bu yapı soğan halkası görünümü verir. Keçilerde ise KLA apselerinin içerdikleri eksüdat daha biçimli ve macunsu bir kıvama sahiptir (7,65).

Keçilerde KLA enfeksiyonu koyunlardakine benzer klinik semptomlar göstermesine rağmen koyunlarda viseral lezyonlar ve özellikle akciğer, böbrek ve karaciğer lezyonlarının daha fazla sayıda görüldüğü bildirilmektedir (56,66).

*C. pseudotuberculosis*'in testisleri enfekte edebileceğinden erkeklerde orşite, epididimise ve dolayısıyla üreme bozukluklarına ve kısırlığa neden olabileceği bildirilmiştir (67).

*C. pseudotuberculosis* enfeksiyonunun daha sık karşılaşılan belirtilerine ek olarak, mastitise de yol açmaktadır. Meme lenf yumrusuna bulaşan etkenler enfeksiyonun ilerlemesinin ardından akut, supuratif mastitis ve meme bezi lenf yumrusu içinde kronik kapsüllenmiş apselere neden olduğu bildirilmektedir (67,68).

### 3.7.Kazeöz Lenfadenitisin Histopatolojik Lezyonları

Histopatolojik olarak, koyun ve keçilerin lenf düğümlerindeki en erken inflamatuar değişiklik, çok sayıda mikro apse, nötrofil ve birkaç eozinofil içermesine

bağlı irinin yeşilimsi bir renk almasıdır (60). Tüm lenf yumrusu büyük ölçüde büyümüştür velenf içeriği epiteloid hücreler, lenfositler, makrofajlar, nötrofiller ve bazen plazma hücreleri gibi nekrotik kalıntılardan oluşur. Karakteristik olarak, apseler koyunlarda, kalın, yeşilimsi veya beyaz, kokusuz bir maddeden oluşan lifli ve sert kapsüllerle çevrilidir. Apseli lenf düğümleri sıklıkla kapsül oluşumu ve nekrozun tekrarlayan aşamaları nedeniyle eşmerkezli süreçlerle "soğan halkası" şeklinde geliştiği bildirilmiştir (68).

### 3.8. Tanı

Hastalığın tanısı, detaylı bir anamnez, karakteristik klinik semptomlar ve yüzeysel lenf yumrularının muayenesiyle birlikte, bakteri kültürü, biyokimyasal, serolojik ve nükleik asit bazlı saptama yöntemleriyle etkenin izolasyonuyla sağlanır (5,8,70,71,72). *C. pseudotuberculosis*'i her yaştaki lezyonlardan izole etmek genellikle mümkündür, ancak kronik apselerde bulunan canlı bakteri sayısının düşük olmasından dolayı steril lezyonlara rastlanabileceği bildirilmiştir (5).

#### 3.8.1 Bakteriyolojik tanı

*C. pseudotuberculosis*'in bakteriyolojik olarak tanımlanması için apseden numune almadan önce apsenin antiseptik temizliğinin yapılması çok önemlidir. Aksi takdirde, saprofit bakteriler kültür ortamında *C.* pseudotuberculosis'in gelişmesini olumsuz şekilde etkileyebilir (73,74). Swap örneklerinin eski apselerin az sayıda etken içermesi nedeniyle yeni apselerden alınması gerektiği bildirilmiştir (75). İzolasyon çoğunlukla aerobik koşullarda, bazen de anaerobik koşullar altında gerçekleştirilir. Etken, büyümeyi arttırmak için kan veya serum ilavesiyle pH 7.0-7.2'de 48-72 saat boyunca 37 ◦C'de oldukça zenginleştirilmiş bir besiyerinde büyütülür. Bazı KLA lezyonları, *Staphylococci* ve *Streptococci* gibi bakterrilerin ortamdaki varlığından dolayı *C. pseudotuberculosis'*in kültüre edilmesine engel olabilir. Koloniler çoğu agar yüzeyinde kremsi ve opak görünürler, sarımsı beyazdırlar ve kanlı agarda siyahımsı bir renk alırlar. Sıvı besi yerinde, *C. pseudotuberculosis* genellikle granüler tortu ve yüzey zarları oluşturur. *C. pseudotuberculosis* kolonisinin bakteriyel yayması mikroskobik bakıda çince harflere benzeyen basiller, kokobasiller veya bazen koklar olarak göründüğü bildirilmektedir (5,73,75). Apse içeriğinin alınmasının kolaylıkla

gerçekleştirildiği ve maliyetinin düşük olduğu ancak irinin, hayvanın derisine, çevreye ve diğer hayvanlara bulaştırması açısından potansiyel bir enfeksiyon kaynağı olabileceği bildirilmiştir (8). Bununla beraber bakteriyolojik testlerin en önemli dezavantajı, bu cinse ait türlerin ayırt edilmesinde rutin bakteriyolojinin kullanımını engelleyen Corynebacterium türlerinin biyokimyasal özelliklerindeki çeşitliliktir. Bu nedenle birçok çalışma bakteriyolojiye başvurmadan KLA'yı tanımlayabilecek serolojik testlere odaklanmıştır (5).

### 3.8.2 Serolojik tanı

KLA'nın bulaşmasında subklinik seyreden enfekte hayvanlar önemli bir rol oynadığından, enfekte hayvanların serolojik tanı yöntemleriyle belirlenmesi hastalığın bulaşmasını önlemede büyük önem taşımaktadır (13,19). Bununla birlikte, kültür için pürülan materyalin alınması sırasında apsenin açılması, irinin hayvan derisini ve çevreye bulaşması açısından yüksek bir risk temsil eder. Bu nedenle, hayvanların serumunda *C. pseudotuberculosis*'e karşı spesifik antikorların saptanmasına dayanan daha az riskli immünodiagnostik testlerin geliştirilmesi tüm dünyada yaygın olarak desteklenmiştir (38). KLA için çoğu serolojik tanı testleri, *C. pseudotuberculosis*'in fakültatif hücre içi doğası nedeniyle hücresel bağışıklığı ve ayrıca esas olarak PLD ekzotoksine karşı humoral bir yanıtın saptanmasına dayanır. Bu hümoral yanıt için IgG immünoglobulinlerini veya IFN-$\gamma$'nu hedefler (76). Bu tür testler, küçük ruminant endüstrisinde enfekte taşıyıcı hayvanları tanımlamak ve sürüden uzaklaştırarak hastalığı kontrol altında tutmak için araştırılmıştır (10).

KLA'yı klinik olarak teşhis etmek için birçok serodiagnostik test geliştirilmiştir. Bunlar Agar jel immünodifüzyon testi (AGID), mikroaglütinasyon testi, hemoliz inhibisyon testi (HIT), sinerjistik hemoliz inhibisyon testi (SHI), tüp aglütinasyon testi, dolaylı hemaglütinasyon testi, Western blot gibi *C. pseudotuberculosis'e* karşı hümoral yanıtı saptamak için birçok farklı serolojik test kullanılmaktadır. Bu testlerin güvenirlikleri hala tartışma konusudur çünkü enfekte sürülerde 6 aylıktan küçük hayvanlarda maternal antikorların varlığının yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuç verebileceği bildirilmektedir (77). Bu testlerin, subklinik olarak enfekte olmuş hayvanların ortaya çıkarılması için önemli kabul edilebilse de, çoğu düşük duyarlılık, zayıf özgüllük ve daha önce maruz kalan hayvanlar ile hala

enfekte olan hayvanlar arasında ayrım yapma yeteneğinden yoksun olduğu bildirilmektedir (46,47,38,78,82). İlhan ve ark. (6) koyunlarda *C. pseudotuberculosis*'e karşı oluşan antikorların, hemoliz inhibisyon testi (HIT) yöntemiyle tespitinde, HlT'in sensitivite ve spesifitesinin düşük olduğu ve bu testle elde edilen sonuçlarının ELISA testi gibi diğer tanı yöntemleriyle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir.

ELISA, *C.* pseudotuberculosis'e karşı bağışıklık tepkilerini saptamak için kullanılan en yaygın serolojik test olduğu bildirilmiştir (9). Subklinik enfeksiyonları oldukça spesifik bir şekilde saptadığından dünya çapında KLA'yı kontrol altına almak için sıklıkla kullanılmıştır (79). Bununla beraber, *C. pseudotuberculosis*'e karşı antikorların saptanması için duyarlılığı ve özgüllüğünün yüksek olması nedeniyle daha güvenilir olarak kabul edilmektedir (5,7,9,14). Bakteri kültürü süpernatanları, hücre duvarı antijenleri, PLD ve rekombinant eksotoksinler dahil olmak üzere çeşitli antijen preparatları kullanarak yapılan ELISA tanı yöntemlerinin, KLA'nın kontrol ve eradikasyon programlarında etkili olduğu bildirilmiştir (79,80,81,82).

Son zamanlarda, *C. pseudotuberculosis*'e karşı hücresel bağışıklığın bir belirleyicisi olarak IFN-γ'nu saptamak için ELISA testleri geliştirilmiştir (4). IFN-γ en önemli makrofaj uyarıcı sitokindir. Doğal ve edinsel immünitede kritik öneme sahiptir. CD4+T, CD8+T hücreleri ve natural killer (NK) hücreleri tarafından sentezlenir (83). Menzies ve ark (76); deneysel olarak tam kan IFN-γ ELISA yöntemi ile rekombinant PLD tabanlı ELISA yöntemleri karşılaştırılmıştır. KLA ile deneysel olarak enfekte olmuş keçilerde tam kan IFN-γ ELISA yöntemi kullanılarak % 89,2 güvenilirlik ve enfekte olmamış keçilerde % 97,1 güvenilirlik ile doğru olarak tespit edilirken, rekombinant PLD tabanlı bir ELISA yöntemi kullanılmasıyla, deneysel olarak enfekte olmuş keçilerde % 81,0 güvenilirlikle ve enfekte olmamış keçilerde % 97,0 güvenilirlikle doğru bir şekilde tespit edildiği bildirilmiştir. Paule ve ark. (48) 8 keçiye deneysel olrak tek doz *C. pseudotuberculosis* suşu ile intradermal olarak enfekte ettikten sonra hümoral ve hücresel bağışıklık tepkileri analiz edilmiş, 20 hafta boyunca spesifik IgG ve IFN-γ üretimi takip edilmiştir. Takip sonunda IFN-γ yanıtının hümoral yanıttan daha fazla olduğu ve enfeksiyondan sonraki 5. günde kısa süreli bir birincil yanıt, enfeksiyondan sonraki 16.günde başlayan güçlü ve uzun süreli bir ikincil yanıt tespit edilmiştir. Meyer ve ark. (82) hücresel yanıtı değerlendirmek için *C.*

*pseudotuberculosis'*in salgılanan antijeni veya somatik antijeni ile enfekte keçilerden tam kan yoluyla in vitro IFN-γ üretimi hedeflemiştir. Her iki antijene verilen tepkilerde önemli bir fark görülmüştür. Salgılanan antijene yanıt olarak enfekte hayvanlarda IFN-γ üretimi yüksek bulunurken, somatik antijen kullanımasına bağlı IFN-γ yoğunluğunun düşük olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, tam kan IFN-γ testi, küçükbaş koyun-keçi sürülerinde KLA için umut verici bir saptama aracı olduğu bildirilmektedir (13,75).

### 3.8.3 Genomik tanı

KLA tanısı için moleküler teknikler de kullanılmıştır. Bu amaçla kullanılan PCR tekniği, KLA ile enfekte hayvanlardan toplanan irin örnekleri veya yapılan bakteriyolojik kültürlerde üretilen bakteri kolonilerinden *C. pseudotuberculosis'*i izole etmek için kullanılan bir tanı yöntemidir (19) . KLA'yı teşhis etmek için PCR'nin en önemli özelliği, bakteriyel izolasyon zorluklarını ortadan kaldıran irin örneklerinden de doğrudan *C. pseudotuberculosis*'i saptama yeteneğidir (84). Bu nedenle PCR, hastalıklı hayvanlarda KLA'nın saptanmasında her zaman önerilen bir yöntem olmuştur (4).

*C. pseudotuberculosis'*isin PCR analizi için PLD, 16S rRNA ve rpoB gen primerleri kullanılmaktadır (84). Yapılan bir araştırmada, *C. ulcerans* ve *C. pseudotuberculosis* ile dikkate değer bir genomik benzerliğe sahip olduğu görülmüştür ve iki bakteri arasındaki rpoB ve 16S rRNA gen benzerliği sırasıyla % 93,6 ve % 99,7 olarak bildirilmiştir. Ancak *C. pseudotuberculosis* ve *C. ulcerans* arasındaki ayrım, 16S rRNA hedefleme primer ikullanılarak başarısız olunduğu ancak PLD primeri kullanılarak başarı sağlandığı bildirilmektedir (19). Mezbahada yapılan bir araştırmada 147 koyundan 81 %55,1'inde koyun karkaslarının mediastinal ve preskapular lenf nodlarında *C. pseudotuberculosis* izole edilirken, PCR yöntemiyle PLD geni duyarlılığı ve kültüre özgüllüğü sırasıyla %98,7 ve % 92,4 olarak bulunduğu bildirilmiştir (85).

### 3.8.4 Visseral apselerin tanısı

Viseral apseleri olan hayvanlarda çeşitli tanı yöntemlerinden faydalanılır. Akciğer tutulumuna bağlı solunum problemi olan hayvanlarda pulmoner parankim ve

lenf yumrusundaki apseler ultrasonografi, röntgen veya bilgisayarlı tomografi gibi tanısal görüntüleme tekniklerinden yararlanarak ortaya çıkarılabilir. Ayrıca transtrakeal aspirasyon yoluyla ve bronkoalveolar lavaj ile etkenin izolasyonuna dayalı tanı yapılabileceği bildirilmektedir (7,61).

### 3.9. Ayırıcı Tanı

Koyunlarda, yüzeysel lenf yumrularında apselerin varlığı özellikle bir sürüdeki birkaç hayvanda birlikte görülüğü durumlarda KLA'yı düşündürür. Klinik olarak aktinobasilozda bulunan piyogranülomatöz lezyonlar ve *Staphylococcus aureus* ve *Actinomyces pyogenes*'in neden olduğu tüberküloz ve diğer yüzeyel apseler, etkenlere yönelik bakteriyolojik kültür yapılarak KLA'dan ayırt edilir (10). Hastalığın yüzeyel formundaki apseler, *Fasciola hepatica* ve *Haemonchu ssp'* nin neden olduğu submandibular ödemden punksiyon yapılarak ayırt edilir. Ancak bu enfeksiyonlar doğası gereği sporadik olma eğilimindedir ve nadiren sürü problemi olarak görüldüğü bildirilmiştir (8).

### 3.10. Sağaltım

#### 3.10.1. Antibakteriyel sağaltım

*C. pseudotuberculosis*'in hücre içi patojen olması ve apseli granulom oluşturması sebebiyle KLA'nın sağaltımında antibiyotik tedavilerinden yeterli bir başarı sağlanamamaktadır. Standart laboratuvar tabanlı testlerde, en sık kullanılan antibiyotik sınıflarının bakteri üremesini ve çoğalmasını önlediği bildirilmektedir (86,87).

Algammal (88) Mısır'da 80 koyun ve 46 keçiden eksternal lenf yumrularındn aseptik olarak toplam 126 irin örneği almış ve antibiyotik duyarlılık testi disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibiyogram testi yapılmış. *C. pseudotuberculosis* izolatlarının çoğunun penisiline (%96,2) ve eritromisine (%92,3) dirençli, siprofloksasin (%96,2), amikasin (%90,4) ve neomisin'e (%88,5) yüksek duyarlı olduğu bildirilmiştir.

Robaj ve ark (89). Kosova'da 184 koyundan eksternal lenf yumrularından 38 irin örneği alınmış ve antibiyotik duyarlılık testi disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibiyogram testi yapılmıştır. *C. pseudotuberculosis* izolatlarının oksitetrasiklin

(%100), amoksisilin/klavulanik aside (%100) tam duyarlı ve kloksasilin (%95,8), gentamisin (%91,7) ve trimetoprim'e (%83,3) yüksek duyarlı olduğu ancak streptomisine (%83,3) ve penisilin G'ye (%62,5) karşı oldukça dirençli olduğu ifade edilmektedir.

Abebe ve ark (90) *C. pseudotuberculosis* izolatlarının in vitro antibiyogram çalışmalarında norfloksasin, tetrasiklin, doksisiklin HCl ve kanamisine duyarlı oldukları ancak ampisilin, klindamisin ve doksisilin HCl'ye karşı direnç gösterdikleri bildirilmektedir.

İlhan (91) mezbahada incelenen 67 adet koyun akciğerinden 16 adet *C. pseudotuberculosis* suşu elde edilmiş ve disk difüzyonla yapılan suşların 14 (%87,5) adeti enrofloksasine, 13 (%81,2) adeti neomisin/basitrasin/tetrasikline, 12 (%75,0) adeti penisilin/novobiosine, 11 (%68,7) adeti oksitetrasikline, 11 (%68,7) adeti amoksisilin/klavulanik asite, 10 (%62,5) adeti kloksasiline, 9 (%56,2) adeti tetrasikline, 5 (%31,2) adeti ampisilin/sulbaktama ve 3 (%18,7) adeti ise trimetoprim/sulfametaksazole duyarlı bulunduğu ama streptomisin (%93,7), trimetoprim/sulfametaksazol (%75,0) ve ampisilin/sulbaktama (%68,7) dirençli olduğunu bildirmiştir.

Şentürk ve ark (93) *C. pseudotuberculosis* ile enfekte koyunlarda rifamisin (10mg/kg) ve oksitetrasiklinin (20mg/kg) kombinasyonu ile yaptıkları tedavinin etkili olduğunu ifade etmişlerdir

*C.* pseudotuberculosis'in penisiline, tetrasiklinlere ve sefalosporinlere in vitro duyarlılığına rağmen, bu ilaçlarla tedavi genellikle KLA'nın kapsüllü apse yapısına, kapsülün koruyucu özelliğine ve *C. pseudotuberculosis'*in hücre içi patojen olması gibi çeşitli faktörlerden dolayı KLA'ya etkili olmadığı bildirilmiştir. Bu nedenle piyogranülomatöz apselere nüfuz edebilen antibiyotikler en iyi seçimdir. (7,92).

### 3.10.2. Cerrahi sağaltım

Yüzeysel lezyonların cerrahi tedavisinde, özellikle maddi değeri olan hayvanlar söz konusu olduğunda alternatif olarak önerilmiştir. Lenf yumrularının cerrahi eksizyonu yapılabilir ancak bu prosedür hayvan sahipleri için zahmetli ve maliyetlidir (5,94). Cerrahi materyaller işlem öncesi ve sonrası dezenfekte edildikten

sonra apsenin drenajı, çevresel kontaminasyonu önleyecek şekilde yapılmalıdır. İşlem sonrasında kullanılan tek kullanımlık materyaller yakılıp gömülmelidir (10). Çıkarılan apse içeriği plastik bir torbada toplanmalı ve imha edilmelidir. Eğer mümkünde hayvan 30 gün süreyle sürüden izole edilmelidir. Apse boşluğu günlük olarak yıkanmalı ve iyileşene kadar seyreltilmiş povidon iyot solüsyonu ile temizlenmelidir (95). Apseler, özellikle koyun ve keçilerde, drenaj veya cerrahi eksizyon girişiminden sonra sıklıkla tekrarlar (10). Hayvan sahipleri hastalığın nüks edebileceğiyle ilgili bilgi verilmelidir (7). Lezyonlar cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra 4-6 haftalık parenteral antibiyotik tedavisi nüks olasılığını azalttığı bildirilmektedir (96).

### 3.10.3. Alternatif sağaltım

KLA için alternatif sağlatım tedavileri de araştırılmıştır. Bunlardan bir de apseleşmiş lenf yumrularına formalin enjeksiyonudur. Formalin aşı benzeri bir etkiyi uyarması ve bunun da dokuların küçülmesine neden olmasıdır. Apse olgunlaştığında, dokunulduğunda yumuşak kıvam aldığında apsenin dorsal yüzünden 14 numara iğne kullanılarak 10 ila 20 ml cerahatlı apse içeriği aspire edilir ve 10 ila 20 ml %10' luk formalin ile karıştırılır. Karışımın bir kısmı yeniden apseye enjekte edilir ve bu işlem 5 kez tekrar edilir. Böylece apse küçülmeye başlayacaktır. Bu tedavinin birkaç dezavantajı vardır, en ciddisi formalinin kanserojen olması ve gıda olarak tüketilen hayvanlarda terapötik bir ajan olarak onaylanmamasıdır. Formalinin apse kapsülünde sınırlı kaldığı varsayımını desteklemek için veri bulunmamaktadır (97).

Bir diğer tedavi yöntemi de antimikrobiyal foto dinamik tedavi (APDT) alternatif bir seçenek olarak gösterilmiştir Antimikrobiyal foto dinamik tedavi, toksik olmayan bir fotosensitif madde ile boyanmış hedef hücrelerin, spesifik dalga boyundaki ışık ile inaktive edilmesi prensibine dayanır. Koyunlarda bulunan yüzeysel apselerin açılıp temizlenmesinin ardından yapılan fotodinamik tedavi sonrasında apselerin 6 ay boyunca nüks etmediği bildirilmiştir (98).

Son zamanlarda KLA'nın hızlı teşhisi için altın nanopartikül yanal akış tabanlı bir test geliştirildiği bildirilmektedir. Birçok bilim adamı, yüksek duyarlılığı, yüksek özgüllüğü, ucuz ve uzman olmayan personel tarafından kolay uygulanan Lateral flow immunokromatografik test (LFIT), antijen antikor kullanan bir immünokromatografik prosedüre bağlıdır. Geliştirilen altın nanoparçacıklar yanal akış

yöntemi *C.* pseudotuberculosis'in tespiti için saha tarama testi olarak hem hızlı hemde uygun bulunduğu ifade edilmiştir (99).

Son zamanlarda yapılan bir araştırmada geleneksel tedavide KLA lezyonlarının drenajı sonrasında %10 iyot kullanılmasına alternatif olarak gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) tedavi amaçlı denenmiştir. AgNP bazlı merhem formülasyonu hem yara iyileştirici hem de antimikrobiyal etkisinin fazla olması nedeniyle tedavide başarı sağlandığı bildirilmiştir (100).

### 3.11. Koruma

*C. pseudotuberculosis*'in terapötik tedaviye karşı dirençli olması, subklinik olarak etkilenen hayvanları tespit etmedeki sınırlamalar nedeniyle ve çevrede uzun süre canlı kalabilme özelliğinden dolayı erdikasyonunun zor olduğu bildirilmiştir (101). Bu ndenle KLA'nın bulaşmasının önlemek için uygulanabilecek en yi yöntem, hayvanların klinik muayenesinin ve periyodik serolojik tanı testlerinin yapılmasıyla klinik semptomu olan veya subklinik seyreden hayvanların tespit edilmesi ve sürüden uzaklaştırılmasıyla birlikte, sağlıklı hayvanların aşılanmasıdır (8,102). Ancak serolojik tanı yöntemlerinin maliyetlerinin yüksek olması sebebiyle pratikte sadece yüksek insidansa sahip olmayan sürülerde kullanımının mümkün olabileceği ifade edilmektedir (1,5).

### 3.12. Aşılama

KLA'nın kontrol altına almanın en etkili yolunun aşılama olduğu bildirilmektedir (15,17,35,54,101).

Bazı ticari aşılar bulunsa da bunların hiçbiri tam koruma sağlamamakta, bazen yetersiz kalmakta ve koyun ve keçilerle kıyaslandığında aynı etkinliğe ulaşmadığı bildirilmektedir (102-105). Aşılamanın hastalığı önlemediği ancak akciğer lezyonu gelişen hayvan sayısını azalttığı ve yaşlı hayvanlar ortadan kalktıkça enfeksiyon oranlarını düşürdüğü bildirilmektedir (106,107). KLA'nın etiyolojik ajanı olan *C. pseudotuberculosis*, fakültatif bir hücre içi bakteridir. Bu nedenle ideal aşı hem hücresel hem de hümoral bağışıklığı uyarmalıdır. Bununla birlikte iyi kalitede aşı üretimi için immünolojik belirteçler olarak IgG ve IFN-y kullanıldığı bildirilmiştir (13,108).

Mevcut ticari KLA aşı teknolojisi, toksoidler, bakterin ve canlı atenüe bakteriler gibi geleneksel aşılama bilimine dayanmaktadır (109,110). Sadece son birkaç yılda modern stratejiler, KLA aşılarının etkinlik ve güvenliğini artırmaya yönelik deneysel düzeyde test edilmeye başlandı. Bu nedenle, uygun bağışıklık ve yüksek koruma sağlamak amacıyla rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak aşı üretme çalışmaları olduğu bildirilmektedir (111-113).

### 3.12.1. Bakterin aşıları

*C. pseudotuberculosis*'in formalinle öldürülmüş hücrelerinden oluşan aşının koyunları subakut bir enfeksiyonun ölümcül etkilerine karşı koruduğu, ancak kronik enfeksiyon lezyonlarının oluşumuna karşı korumadığı bildirilmektedir. Koyun ve keçilerde saha denemesinde, hastalık insidansını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (10,33).

### 3.12.2. Toksoid aşılar

Kanada, Avustralya ve Yeni Zelanda'da koyun ve keçiler için Glanvac 3 ve Glanvac 6 ticari aşıları kullanılmaktadır. Bu aşılar; *Clostridium tetani, Clostridium perfringens tip-D* antijenleri ile birleştirilir; Glanvac 6, ayrıca *Clostridium septicum, Clostridium novyi* ve *Clostridium chauvoei* antijenleri içerir. Avustralya'da yapılan araştırmalar, koyunlarda enfeksiyondan önce KLA aşısının kullanılmasının hastalığın yayılmasını engellemede faydalı olduğunu göstermiştir. Enfekte sürülerde KLA prevalansı %70 ila %80 oranında azaldığı bildirilmiştir (7,17).

### 3.12.3. Kombine aşılar

Amerika Birleşik Devletleri'nde, inaktive edilmiş tam hücre duvarı antijeni ve detoksifiye edilmiş ekzotoksinden (Case-Bac ve Caseous D-T, Colorado Serum) yapılan aşı sadece koyunlarda kullanım için ruhsatlandırılmıştır. Caseous D-T, *Clostridium tetani* ve *Clostridium perfringens tip D* antijenleri ile kombinasyon halinde bir bakterin toksoiddir ve koyunlarda iç ve dış apseleri önlediği bildirilmiştir (5,7,33).

### 3.12.4. Canlı aşılar

Fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda koruma sağladığı görülse de koyunlar üzerinde spesifik IFN-γ salgılayan lenfositlerin uyarılmaması ve *C.* pseudotuberculosis'e karşı oluşan immunuglobilin G 'nin düşük miktarda olması sebebiyle koyunlarda başarı sağlanamadığı bildirilmektedir (33).

### 3.12.5 Ticari aşılar

Ticari aşıların çoğu, Clostridium cinsinin patojenlerinden (*Clostridium tetani, Clostridium perfringens, Clostridium novyi, Clostridium chauvoei* ve *Clostridium septicum)* antijenlerle bağlantılı *C. pseudotuberculosis*'in inaktive edilen PLD'si ile formüle edilmiş çok amaçlı toksoid aşılardır (4,114). Kanada, Avustralya ve Yeni Zelanda'da koyun ve keçilerde kullanım için lisanslı Glanvac® (Vetrepharm Inc, İngiltere) aşısı ve kullanım için lisanslı Biodectin® (Fort Dodge LTD, Avustralya) aşılarıda bu formülasyon ile üretilmiştir (102).

Ticari olarak 9 tip Glanvac aşısı bulunmaktadır. Clostridium antijenlerini kullanan bu aşı formülasyonunun kullanımının uygun, nispeten ucuz ve pazarlanması kolay olduğu, bununla birlikte optimal koruma için, kuzu başına birden fazla dozların kullanılmasını ve yetişkin koyunlarda yılda bir defa tekrar doz uygulanması gerektiği bildirilmektedir (113).

Biodectin®, altı antijenik fraksiyon (4 toksoid ve iki formalinle muamele edilmiş bakteri kültürü) ve bir endektosidin (moksidektin) sabit bir kombinasyonundan oluşan bir aşıdır (13).

Caseous D-T® (Colorado Serum Co. ABD), *C. pseudotuberculosis*'in bir bakterin ve toksoidi ile iki clostridial toksoidin (*Cl. perfringens tip D, Cl. tetani*) kombinasyonuna dayanmaktadır (5). Bunlar; klostridial toksoidler ve *C. pseudotuberculosis* bakterileri içeren kombinasyonu diğeri ise toksoidlerin bir kombinasyonunu içeren formulasyonlardır (109,115).

Case-Bac® (Colorado Serum Co. ABD), *C. pseudotuberculosis* toksoid ve bakterinin bir kombinasyonundan oluşur, ancak klostridial toksoidler içermez (116).

# 4.GEREÇ VE YÖNTEM

## 4.1. Gereç

### 4.1.1. Hasta materyali:

Bu çalışmanın materyalini Diyarbakır'ın farklı bölgelerinde olmak üzere 11 ayrı sürüden toplamda 2650 adet Akkaraman koyun oluşturdu. Sağlık taramasından geçirilen koyunların içinden 90 adet KLA semptomları gösteren ve yüzeysel lenf yumrularından bir veya birkaç tanesi birden apseleşmiş hasta koyunlar tespit edilerek çalışmaya dahil edildi.

### 4.1.2. Kullanılan cihazlar ve kimyasallar

Çalışmanın yürütülmesi sırasında, materyallerin toplanması, saklanması ve laboratuar aşmasında aşağıdaki cihazlar ve kimyasallar kullanılmıştır.

**Cihazlar**

- Santrifüj: Mikro 22 R, Almanya
- Vortex: Start SA8, Almanya
- Hassas Terazi: Mettler Toledo, İsviçre
- Gradient PCR Cihazı: Applied Biosystem 2022, Singapur
- Elektroforez: Syngene SYTC/1287
- Jel Yürütme Cihazı: Consort EV231, Belçika
- Etüv: ThermoHeratherm IGS60, Almanya
- Mikroskop: Olympus CX 31, Japonya
- Mikropipet: ThermoScientific, Almanya
- Soğutucu Dolaplar: Uğur Derin Dondurucu
- Otoklav: ThermoScientific OG180, Japonya
- Kabin: Metisafe
- Heater: Biosan
- Mikrodalga: Arçelik MD 565S
- Steril pipet uçları
-Transport Medium Swap
- Mezür

- Grainer (15ml)
- Ependorf, Lam ve lamel

**Kimyasallar**

- Serum fizyolojik: İzotonik 1000cc, Polifarma-Türkiye
- İyot kristalleri: Kimetsan, Türkiye
-Streptavidin-HRP Mybiosource, USA
-Standard Solusiyon: Mybiosource, USA
-Lyse ST buffer: Bio Basic Inc, Kanada
- Chromotrope 2R: Himedia, India
- Light gren SF: Himedia, India
- Fosfotungustik asit: Sigma, Almanya
- Glasiyel asetik asit (%100): Merck, Almanya
- Ksilen: Kimetsan, İngiltere
- Civakloür: Fluka, USA
-Durdurma solusyon: Mybiosource, ABD
-SubstrateSolusyon A: Mybiosource, ABD
-Substrate Solüsyon B: MyBiosource, ABD
-Wash Buffer: Mybiosource, ABD
- CW2 solusyonu: BıoBasıcInc, Kanada
- Proteinas Ksolusyonu: BıoBasıcInc, Kanada
- Buffer CLsolusyonu: BıoBasıcInc, Kanada
- CW2 solusyonu: BıoBasıcInc, Kanada
- Buffer CE solüsyonu: BıoBasıcInc, Kanada
- Potasyum iyodür: Kimetsan, Türkiye
- İmmersiyon
- Etil alkol (etanol) ve metil alkol (metanol): Riedel-de Haën
- Agar: Agarose Low EEO, AppliChemBioChemica
- MgCl2: Enzymes 50 mM
- Buffer: HemoKlenTaqReactionBuffer Pack BO332S, Biolab
- Etidyum bromür: SIGMA tablet
- Gliserol: Ambresco

- Orange G: Applichem
- Tris: Ambresco
- EDTA: Scharlau
- SDS: Aplichem
- Fenol: Riedel de Haen
- Kloroform: Kimetsan
- İzoamil alkol: Aplichem
- Borik asit: Riedel de Haen

## 4.2. Yöntem

### 4.2.1. Klinik muayene

Rutin muayene yöntemleri ile hastaların klinik muayenesi yapıldı. Muayene sırasında parotis, retrofarengeal, submandibular ve presukapular lenf düğümlerinden biri veya birkaçı apseleşmiş koyunlar KLA yönünden araştırmaya dahil edildi.

### 4.2.2. Örneklerin alınması

#### 4.2.2.1. Kan örneklerinin alınması

Farklı yaş ve cinsiyetteki 90 adet koyundan jugular venden vacutainer ile steril tek kullanımlık iğne ucu kullanılarak 9 ml antikoagülansız biyokimya tüplerine kan alındı. Antikoagülansız tüplere alınan örnekler oda sıcaklığında pıhtılaşmaları beklendikten sonra 3000 devir/dakikada 10 dakika santrüfüje edildi. Elde edilen serumlar 1,5 ml'lik ependorf tüplerine alınarak analizleri yapılıncaya kadar -20 ºC de saklandı.

#### 4.2.2.2. Swap örneklerinin alınması

Tüm örnekler tam aseptik koşullar altında alındı. Kapalı apseler traş edildikten sonra %70'lik alkol ile temizlendi. Tek kullanımlık bistüri ile apsepatlatıldı ve yine tek kullanımlık steril transport mediumlu swaplar kullanılarak apse içeriğinden irin örneği alındı. Soğuk zincirde labaratuvara ulaştırılan swap örnekleri kullanılıncaya kadar -60 ºC'de saklandı.

### 4.2.3. Yapılan laboratuvar analizleri

#### 4.2.3.1. Bakteriyolojik analizler

##### 4.2.3.1.1 İzolasyon ve identifikasyon çalışmaları

*C. pseudotuberculosi'*in izolasyonu için KLA şüpheli hayvanların apseleşmiş lenf düğümlerinden alınan streril tek kullanımlık swap örnekleri aynı gün %7 defibrine koyun kanlı agar içeren petrilere ekimler yapıldı. Ekim sonrası petriler 37°C de aerobik ve mikroaerofilik koşullarda 24-48 saat inkube edildi. İnkubasyon sonrası petriler incelenerek zayıf bir hemoliz bölgesi ile çevrili küçük, nokta çapında, beyazımsı, opak koloniler *C. pseudotuberculosis* şüpheli olarak değerlendirildi. Alevde öze yardımıyla alınan bakteriler fizyolojik su ile sulandırılarak lam üzerinde yayma işlemi yapıldı. Hazırlanan preparat kuruduktan sonra Gram boyamaya tabi tutuldu. Işık mikroskobunda incelenen preparatlarda Gram (+) X, Y formunda görülen etkenler *Corynebacterium spp.*olarak kabul edilerek VİTEC II otamatik bakteri tanımlama cihazında Gram (+) anaerobcard ile identifikasyonu gerçekleştirildi.

##### 4.2.3.1.2. Direk mikroskobik (Gram boyama)

**1-**Öze ile petri kabından bakteriler alınarak lam üzerinde serum fizyolojik suyla yayma işlemi yapıldı.

**2-**Preparatın üzerine kristal viyole boya çözeltisi eklenerek 1 dakika beklendi

**3-** Preparat bol distile suyla yıkandı.

**4-** Preparatın üzerine üzeri tamamen kaplanacak şekilde lugol çözeltisi eklendi ve 1 dakika beklendi.

**5-**Preparat distile suyla yıkandı.

**6-**Preparatın üzerine %95'lik etanol eklenerek 10-15 saniye beklendi.

**7-**Preparat distile suyla yıkandı.

**8-**Preparatın üzerine sulu fuksin boya çözeltisi eklenerek ve 30 saniye beklendi.

**9-**Preparat bol distile suyla yıkandı.

**10-** Preparat kurutma kâğıdı ile kurutuldu.

**11-**Mikroskopta incelendi. Mor renkte görülen mikroorganizmalar gram (+), pembe-kırmızı renkte görülenler ise gram (-) olarak değerlendirilir**.**

Direk mikroskobik inceleme: Direk mikroskobik incelemede her örnek için serum fizyolojik ve Gram boyama ile preparatlar hazırlanarak ışık mikroskobunda (40X objektif) incelendi.

#### 4.2.3.2. ELISA

Serum örnekleri analizleri için SheepPhospholipase D1 ELISA Kit (MyBioSource, ABD Inc.) kullanıldı. Yöntem kit üreticisinin önerdiği protokole göre gerçekleştirildi.

**ELISA kit prosedürü**

**1**.Test için gereken şerit sayısı belirlendi.

**2**. Plakalar, Sheep PLD antikoru ile önceden kaplanmıştır. Standart kuyuya 50µl standart solusyonueklendi.

**3**.Numune kuyularına 40µl serum eklendi ve ardından serum kuyularına 10µl anti-PLD antikoru eklendi, ardından serum kuyularına ve standart kuyucuklara 50µl streptavidin-HRP eklendi ve iyice karıştırıldı.

**4.** 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

**5**. Plakalar yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Kuyuları her yıkama için 30 saniye ila 1 dakika arasında 300ul yıkama tamponu ile ıslatın. Otomatik yıkama için, her kuyuyu boşaltıldı ve yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Plakayı kâğıt havluların üzerinde kurulandı.

**6**. Her kuyuya 50 µl substrat A solüsyonu eklendi ve ardından her kuyuya 50 µl substrat B solüsyonu eklendi.

**7**. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca plakarinkübe edildi.

**8**. Her kuyucuğa 50µl Durdurma Solüsyonu eklendikten sonra mavi renk hemen sarıya dönüştü.

**9**. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka ile okuyucu kullanarak hemen her kuyunun optik yoğunluğunu belirlendi.

#### 4.2.3.3. PCR

Alınan swap örnekleri laboratuvar koşullarında sulandırılıp vortekslenerek 1.0 ml hacimlerde -20ºC'de Phosphate Buffered Saline'de saklandı. Toplanan örnekler Real

Time PCR ile DNA izolasyon kit prosedürüne göre *C. pseudotuberculosis* PLD geni izolasyonu ve identifikasyonu gerçekleştirildi.

**PCR Yöntemi**

DNA eldesi için, apse içeriğinden alınan swap örnekleri DNA izolasyon kiti One-4-All Genomic DNA1 Mini-PREPS Kit (BioBasicCanadaInc) kullanıldı. Bu amaçla 90 adet irin örneğikullanıldı. DNA eldesinin kontrolü amacıyla *C. pseudotuberculosis* genel primerleri ile amplifikasyon yapılıp DNA varlığı kontrol edildi. Uygun DNA eldesi yöntemi belirlenerek irinden izole edilen DNA'lar subtip tayini için kullanıldı.

**One-4-All Genomic DNA Mini-PREPS Kit Çalışma Prosedürü**

İrin örnekleri **400 µl** distile su ile sulandırılarak iyice karıştırıldı ve karışım 1,5 ml ependorf tüplerine alındı.

1. **10.000 rpm de 30 saniye** santrifüj edildi. Üstte biriken supernatant atıldı.
2. Karışıma **180 µl Lyse ST buffer** solusyonueklendikten sonra vortexlendi.
3. Karışım **56 ºC** de **1 saat** inkübatörde bekletildi.
4. **200 µl Buffer CL ve 20 µl Proteinas K** solüsyonları eklendi ve iyice karıştırıldı.
5. 56 C de 1 saat inkübatörde bekletildi.
6. **200 µl %100 etanol** eklenerek karıştırıldı.
7. Karışımdan **2 µl** alındı ve spin – column yerleştirilmiş tüpe aktarıldı.
8. **12000 rpm de 1 dakika** santrifüj edildi.
9. Spin -column 1,5 ml toplama tüpüneaktarıldı **ve 500 µl CW1** solusyonu eklendi.
10. **12000 rpm**de **1 dk** santrifüj edildi.
11. Spin -column 1,5 ml toplama tüpüne aktarıldı ve **500 µl CW2 solusyonu** eklendi.
12. **12000 rpm de 1 dk** santrifüj edildi.
13. **12000 rpm de 2 dk** santrifüj edildi.

**14.** Spin -column 1,5 ml'lik ependorf tüplerine alınarak oda sıcaklığında 2-3 dk bekletildi**.**

**15. Buffer CE** kullanılmak üzere 70 C de ısıtıldı

**16. 100 µl Buffer CE** eklendi ve oda sıcaklığında 2 dakika bekletildi.

**17. 12000 rpm de 1 dk** santrifüj edildi.

Elde edilen DNA'lar PCR çalışmalarında kullanılıncaya kadar -20$^{o}$C'de muhafaza edildi.

**Tablo 1.** *C. pseudotuberculosis'*in genel primerleri

| | **Amplikon büyüklüğü (bç)** | **Primerler (Forward/Reverse)** |
|---|---|---|
| **Genel Primer** | 816 | F: 5' ACCGCACTTTAGTGTGTGTG -3'<br>R: 5' TCTCTACGCCGATCTTGTAT-3' |

**Tablo 2.** *C. pseudotuberculosis*'in subtip tespitinde kullanılan primerler

| | **Amplikon büyüklüğü (bç)** | **Primerler (Forward/Reverse)** |
|---|---|---|
| **PLD** | 203 | F:5'ATAAGCGTAAGCAGGGAGCA-3'<br>R: 5' ATCAGCGGTGATTGTCTTCC-3' |

**Tablo 3.** PCR MİX

| **PCR bileşeni** | **Bileşen miktarı** |
|---|---|
| dd$H_2O$ | 10,2 µl |
| Q Solution | 2 µl |
| Buffer | 2 µl |
| MgCl | 1,6 µl |
| dNTP | 1,6 µl |
| Primer F | 0,2 µl |
| Primer R | 0,2 µl |
| Taqpolimeraz | 0,2 µl |
| DNA | 2 µl |
| **Toplam reaksiyon miktarı** | **20 µl** |

Genel ve *C. pseudotuberculosis* PLD primerleri için kullanılan primerin bağlanma derecelerini belirlemek için farklı ısılarda çoğaltıldı ve jelde yürütülen DNA'lar parlaklık derecelerine göre bağlanma dereceleri belirlenerek PCR protokolü oluşturuldu

**Tablo 4.** PCR ısı döngüsü

| Sıcaklık | Süre | Döngü sayısı |
|---|---|---|
| 94˚C | 5 dk | 1 |
| 94˚C | 45 sn | 35 |
| 57˚C | 45 sn | |
| 72˚C | 1 dk | |
| 72˚C | 7 dk | 1 |

#### 4.2.3.3. 2. Jel elektrofarez yöntemi

**Jel hazırlama**

**5X TBE hazırlanışı**

- EDTA : 20 ml (0.5 M, pH: 8)
- Tris : 54 g
- Borik Asit : 27.5 g

**Yükleme Tamponu (Orange G)**

- Orange G : 25 mg
- Gliserol : 3 ml
- 5X TBE : 2 ml
- Distile su : 5 ml

**Moleküler ağırlık standardı**

- Distile su : 4 µl
- Blue loadingdye : 1 µl
- DNA loader : 1µl

**Yöntem**

**1.** Jel yürütme tamponu hazırlamak için; 20 ml EDTA ve tartılan kimyasallar 1000 ml'lik şişe içerisine alındı ve üzeri 1000 ml' ye kadar distile su ile tamamlandı. Jel hazırlamak ve tank içerisinde jel yürütürken kullanmak için hazırlanan 5X TBE' den 200 ml 5X TBE'den alınıp üzerine 800 ml distile su eklenerek 1X TBE hazırlanmıştır.

**2.** Jel için; 100 ml 1X TBE içine 1.5 g agaroz tartıldı ve karışım içerisindeki agaroz kristalleri çözülünceye kadar mikrodalgada ısıtıldı. Daha sonra hazırlanan jel içerisine 5 µl etidyum bromür eklenerek taraklı tanka döküldü ve 45 dk jelin kristalize olması için beklenildi. Donan jel içerisinden taraklar çıkarılarak jel yürütme tankına yerleştirildi.

**3.** Tankın içi jel yüzeyini kaplayacak kadar 1X TBE tamponu ile dolduruldu.

**4.** Amplifiye edilen DNA'dan 10 µl ve yükleme tamponundan 2 µl alınarak ayrı bir yerde pipetlenip totalde 12 µl olacak şekilde jel içindeki kuyucuklara yüklendi.

**5.** DNA'ların ağırlıklarına göre dizilimini belirlemek için 5 µl marker DNA örnekleri gibi ilk kuyuya yüklendi. Yüklenen DNA'lar tank içinde 60 Amper, 110 Volt da 30-35dk yürütüldü.

**6.**Agaroz jel tanktan çıkarılarak translüminatöre aktarıldı. Translüminatörde, DNA'ların ağırlıklarına göre oluşturduğu bantlar UV ışığı altında incelendi.

### 4.2.4. İstatiksel Analizler

Verilerin analizi SPSS 22.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analizlerde uygun veriler, tanımlayıcı istatistikler (sayı, yüzde olarak) olarak sunuldu.

# 5.BULGULAR

## 5.1.Klinik muayene bulguları

Klinik muayenede tüm koyunların lenf yumruları muayene edildi. Palpe edilen parotis, retrofarengeal, submandibular ve preskapular lenf yumrularının ayrı ayrı tek başına ya da beraber apse formunda olduğu tespit edildi. Büyümüş genişlemiş lenf yumrularının kıvamı sert ya da yumuşaktı ve palpasyonda ağrı bulgusuna rastlanmadı. Apse içerisindeki irinin kokusuz, renginin kremsi ila yeşilimsi ve kıvamının sulu veya katı olduğu görüldü. Bazı apselerin üzerindeki deride bulunan yünlerin döküldüğü bazı apselerinde doku bütünlüğünün bozulduğu ve dışarıya doğru fistülleşmiş olduğu tespit edildi. KLA'nın kronik olması ve subklinik seyretmesi nedeniyle yapılan temparatür, nabız ve solunum muayene bulguları referans aralıkları içerisinde olduğu tespit edildi. Bu nedenle istatiksel olarak anlamlı bulunmadı. Akciğer auskultasyonunda herhangi bir patolojik ses alınmadı. Sistemik bir enfeksiyon belirtileri gözlemlenmedi. Etkilenen lenf yumrularının yeri kaydedildi.



**Resim 1.** KLA ile enfekte etkilenmiş kapalı submandibular lenf yumrusunu gösteren koyun




**Resim 2.** (A) Açılmış parotis lenf yumrusu ve (B) kapalı preskapular lenf yumrusu birlikte gösteren KLA ile enfekte koyun



**Resim 3:** Etkilenmiş kapalı parotis lenf yumrusunu gösteren KLA ile enfekte koyun




**Resim 4**. Etkilenmiş kapalı parotis lenf yumrusu (A) ve postmortem görüntüsünü gösteren KLA ile enfekte koyun (B)




**Resim 5**. Postmortem muayenede kalp (A), akciğer görüntüsü (B), preskapular lenf yumrusu (C) görüntüsü gösteren nekropsi bulgular

**Tablo 5.** Yüzeysel lenf yumrularında dağılım

| **Lenf Yumrusu** | **Sayı** | **Yüzde %** |
|---|---|---|
| Parotis | 38 | 42,2 |
| Submandibular | 18 | 20,0 |
| Retrofarengeal | 8 | 8,8 |
| Preskapular | 2 | 2,2 |
| Parotis+Submandibular | 15 | 16,6 |
| Preskapular +Parotis | 1 | 1,1 |
| Retrofarengeal +Parotis | 8 | 8,8 |
| Toplam | 90 | |

### 5.2. Bakteriyolojik bulgular

KLA semptomları gösteren 90 adet koyunda apseleşmiş lenf düğümleri içeriğinden swapla alınan irin örnekleriyle bakteriyolojik kültürde ekim yapıldı. 90 örnekten 12 (%13,3)'sinde *C. pseudotuberculosis* izole edilirken, 16'sından *Staphylococcus aureus*, 8'inde *Streptococ spp*. ve 6'sında *E.coli* kolonileri görüldü ve 48 (%53,3) kültürde hiç üreme olmadı. 12 örnekten 11 tanesi ELISA ve PCR

bulgularıyla uyumlu olduğu 1 örneğin ise sadece PCR analizi ile uyumlu olduğu tespit edildi.

**Tablo 6.** Kültür Örneklerinin İstatistik Sonuçları

| | **Frequency** | **Percent** | **Valid Percent** | **Cumulative Percent** |
|---|---|---|---|---|
| **Valid Negatif** | 78 | 86,7 | 86,7 | 86,7 |
| **Pozitif** | 12 | 13,3 | 13,3 | 100,0 |
| **Total** | 90 | 100,0 | 100,0 | |

**Tablo 7.** Bakteriyolojik bulgular

| Tür | Sayı |
|---|---|
| *C. pseudotuberculosis* | 12 |
| *Staphylococcus aureus* | 16 |
| *Streptococcuss spp* | 8 |
| *E. coli* | 6 |
| Toplam | 42 |

### 5.3. ELISA bulguları

Yapılan seolojik incelemelerde, test edilen 90 adet kan serumu örneğinden *C. pseudotuberculosis* PLD antikorları 17 (%18,8)'sinde pozitif saptanırken, 73 (%81,1)'ünde antikor saptanmadı. 17 örnekten 11 tanesi kültür ve PCR analizleriyle uyumlu bulunurken 6 tanesinin sadece PCR analiziyle uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 8.** ELISA Sonuçları

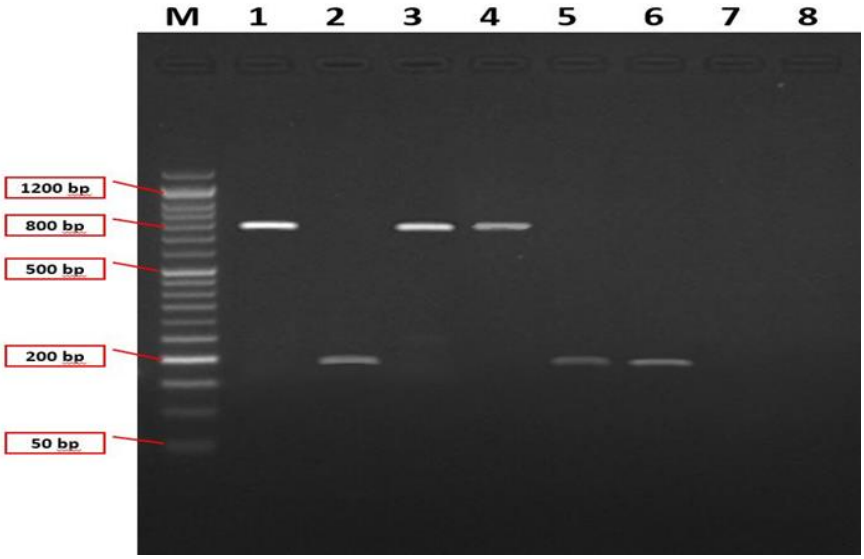
| | **Frequency** | **Percent** | **Valid Percent** | **Cumulative Percent** |
|---|---|---|---|---|
| **Valid Negatif** | 73 | 81,1 | 81,1 | 81,1 |
| **Pozitif** | 17 | 18,9 | 18,9 | 100,0 |
| **Total** | 90 | 100,0 | 100,0 | |

### 5.4. PCR bulguları

Apseleşmiş lenf yumrularından alınan 90 adet swap örneğinden yapılan PCR analizlerine göre *C. pseudotuberculosis* PLD geni 26 (%28,8)'sında pozitif bulundu. Numunelerden 64 (%71,1)'ünde *C. pseudotuberculosis* PLD geni negatif olarak saptandı. 26 örnekten 11 tanesi kültür ve ELISA analizleri ile uyumlu bulunurken 6 tanesi sadece ELI SA ile uyumlu, 1 tanesi sadece kültür ile uyumlu, 8 tanesi de sadece PCR pozitif bulunmuştur.

**Tablo 9.** PCR Sonuçları

| | **Frequency** | **Percent** | **Valid Percent** | **Cumulative Percent** |
|---|---|---|---|---|
| **Valid Negatif** | 64 | 71,1 | 71,1 | 71,1 |
| **Pozitif** | 26 | 28,9 | 28,9 | 100,0 |
| **Total** | 90 | 100,0 | 100,0 | |




**Resim 6. M:** Marker; **Şerit 1**: Kontrol grubu genel primerleri: 816 bp, **Şerit 2**: Kontrol grubu PLD: 203 bp, **Şerit 3,4**: Hasta grubu genel primerleri, **Şerit 5,6**: Hasta grubu PLD, **Şerit 7,8**: Negatif kontrol grubu

**Tablo 10a.** KLA enfekte koyunlara ait 90 adet materyalin laboratuvar bulguları

| Materyal numarası | Kültür | ELISA | PCR |
|---|---|---|---|
| 1 | - | - | - |
| 2 | - | - | + |
| 3 | + | + | + |
| 4 | - | - | + |
| 5 | - | - | - |
| 6 | - | - | - |
| 7 | - | - | - |
| 8 | + | + | + |
| 9 | - | - | + |
| 10 | + | + | + |
| 11 | - | - | - |
| 12 | - | - | - |
| 13 | - | - | - |
| 14 | - | - | - |
| 15 | - | + | + |
| 16 | + | + | + |
| 17 | - | + | + |
| 18 | - | - | - |
| 19 | - | - | - |
| 20 | - | + | + |
| 21 | - | - | - |
| 22 | + | + | + |
| 23 | - | - | - |
| 24 | - | - | - |
| 25 | - | - | - |
| 26 | - | - | - |
| 27 | - | - | - |
| 28 | + | + | + |
| 29 | - | - | - |
| 30 | - | - | - |

**Tablo 10b.** KLA enfekte koyunlara ait 90 adet materyalin laboratuvar bulguları

| Materyal numarası | Kültür | ELISA | PCR |
|---|---|---|---|
| 31 | - | - | - |
| 32 | - | - | - |
| 33 | - | - | - |
| 34 | - | - | - |
| 35 | - | - | - |
| 36 | - | - | - |
| 37 | - | - | - |
| 38 | - | - | - |
| 39 | - | - | - |
| 40 | - | - | - |
| 41 | - | - | - |
| 42 | - | - | - |
| 43 | - | - | - |
| 44 | - | - | - |
| 45 | - | - | - |
| 46 | - | - | - |
| 47 | - | - | - |
| 48 | - | - | - |
| 49 | - | - | - |
| 50 | - | - | - |
| 51 | - | - | - |
| 52 | - | - | - |
| 53 | - | - | - |
| 54 | - | - | - |
| 55 | + | + | + |
| 56 | + | + | + |
| 57 | - | + | + |
| 58 | - | - | - |
| 59 | - | - | - |
| 60 | - | + | + |

**Tablo 10c.** KLA enfekte koyunlara ait 90 adet materyalin laboratuvar bulguları

| Materyal numarası | Kültür | ELISA | PCR |
|---|---|---|---|
| 61 | + | + | + |
| 62 | - | - | - |
| 63 | - | - | + |
| 64 | + | + | + |
| 65 | - | + | + |
| 66 | + | + | + |
| 67 | - | - | - |
| 68 | - | - | - |
| 69 | - | - | - |
| 70 | - | - | - |
| 71 | - | - | - |
| 72 | - | - | - |
| 73 | - | - | - |
| 74 | - | - | - |
| 75 | - | - | - |
| 76 | - | - | - |
| 77 | - | - | - |
| 78 | - | - | - |
| 79 | - | - | - |
| 80 | - | - | - |
| 81 | - | - | - |
| 82 | - | - | - |
| 83 | + | - | + |
| 84 | - | - | + |
| 85 | - | - | + |
| 86 | - | - | + |
| 87 | - | - | + |
| 88 | - | - | - |
| 89 | - | - | - |
| 90 | - | - | - |
| | | | |
| TOPLAM | 12 | 17 | 26 |
| % | 13,3 | 18,8 | 28,8 |

# 6. TARTIŞMA

KLA, koyun ve keçileri dünya çapında etkileyen ve önemli ekonomik kayıplara neden olan, yüzeysel ve visseral lenf yumrularında granülomatöz lezyonlarla karakterize kronik ve zoonoz bir hastalıktır (29,30). *C. pseudotuberculosis*'in sahip olduğu iki virülans faktörün hastalığın gelişiminde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bunlardan birincisi, vasküler geçirgenliği artırarak patojenin konakçı içinde yayılmasına aracılık eden ekzotoksin fosfolipaz D'dir. İkincisi, bakterilerin fagositler tarafından sindirilmesine engel olan hücre duvarı yüzey lipidi olan mikolik asittir (20,24,28).

KLA dünya genelinde başta Avrupa, Afrika, Avustralya, Güney ve Kuzey Amerika, Orta Doğu olmak üzere birçok ülkede görüldüğü bildirilmektedir. (1,8,10,21,29,94). 1996-2004 yılları arasında KLA ile ilgili 201 ülkeden 64'ünde bildirim yapıldığı ifade edilmiştir (8).

Araştırmacıların yaptığı çalışmalarda, aşılama, hijyen ve eradikasyon programlarının uygulanmasından sonra KLA prevalansının %26 bulunduğu bildirilmiştir (17). Aynı ülkede sonraki yıllarda Avustralya'da yetişkin koyunlar arasında KLA'nın ortalama prevalansı 1973'te %58 ve 1984'te %53 olarak bildirilmiştir (5).

Stoops ve ark (32). ABD'nin özellikle batı bölgelerinde yaptıkları bir araştırmada, koyunlarda KLA prevalansını klinik olarak %42,4 bulduklarını, bakteriyolojik analizde ise %12,6 oranında izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Selim ve ark. (71) Mısır'da klinik olarak muayene edilen 3471 koyundan yüzeysel lenf yumruları apseleşmiş 129 koyun tespit etmiş ve KLA prevalansını %3,71 olarak bildirmiştir. Etkilenen 129 koyundan, lenf nodu lezyonlarının dağılımı parotis 57 (%44,19), submandibular 49 (%37,98), preskapular 18 (%13,96) ve prefemoral 5 (%3,87) olduğu bildirilmiştir. Parotis ve submandibular lenf yumrusunun fazla görülmesinin nedeni baş bölgesindeki yara veya sıyrıkların hastalığın bulaşmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Mubarak ve ark. (72) Mısır'ın Assiut ilinin 4 farklı ilçesinde 1252 koyun ile beraber 520 keçi KLA klinik yönünden araştırmış ve genel prevalansın koyunlarda % 6,78, keçilerde ise % 4,81 olarak bildirmişlerdir. En çok parotis lenf yumrusunun etkilendiği ifade edilmiştir.

Jung ve ark. (119) Kore'de ülke genelinde 40 sürüden toplam 466 keçi klinik olarak incelenmiş ve KLA prevalansı 34 (%7,3) olarak bildirilmiştir. En çok parotis, submandibular ve servikal lenf düğümlerinin etkilendiği ifade edilmiştir.

Tripathi ve ark. (120) Hindistan'da KLA yönünden araştırılan 752 keçide yapılan klinik muayenede KLA prevalansı %4,38 (33/752) olarak bildirmiştir.

Kumar ve ark. (121) Hindistanda yapılan bir diğer araştırmada 1.080 koyun apseleşmiş lenf yumrularından yapılan klinik muayenede KLA prevalansı 25 (%2.31) olarak bildirmiştir.

Chirino-Zarraga ve ark. (73) Venezuala'da 18 keçi çiftlikliğinde toplam 2.604 keçiden 65 keçide apse olduğunu ve apse içeriğinden yaptıkları bakteriyolojik analizde çiftliklerin genel prevalansın %0 ile %8 arasında değiştiğini bildirmiştir.

Rawashdeh ve ark (29) Ürdün'deki beş sürüden toplam 876 koyun üzerinde yaptığı araştırmada KLA prevalansını %15,3 olarak bildirmiştir.

Al- Harbi ve ark. (122) Orta Suudi Arabistan'da 15 koyun ve 12 keçi çiftliğinde yaptıkları bir araştırmada klinik olarak KLA semptomları gösteren hasta koyun ve keçilerin yüzeysel lenf düğümlerinden aldıkları 120 irin örneğinden hastalığın prevalansı koyun çiftliklerinde %5- %44,1 arasında değiştiği, keçi çiftliklerinde ise %2,2 – %6,5 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Guimaraes ve ark. (123) Brezilya'da mezbahada yapılan bir araştırmada, postmortem muayenede koyunların %15,3'ünün preskapular ve submandibular lenf düğümlerinin etkilenmiş olmasına rağmen 2.470 koyundan 805 serum örneğinin alındığı ve hayvanların %43,7'sinin seropozitif bulunduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, enfekte hayvanların çoğunun klinik belirti göstermeyebileceği ifade edilmiştir.

Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çeşitli araştırmalar KLA'nın koyun ve keçilerde varlığını bildirmişlerdir (2, 6, 19, 20, 24, 25, 30, 69, 85, 93, 94). Aynı şekilde farklı bölgelerde yapılan mezbaha bazlı araştırmalar ise KLA'nin küçükbaş hayvanlarda özellikle koyunlarda %0,6 ile %55,1 arasında değişen oranlarda yaygın olduğunu göstermiştir (19, 25, 85).

Çetinkaya ve ark. (19) Elazığ yöresindeki mezbahada incelenen 2046 koyun karkasından KLA şüpheli 71 (%79,8) örnekte KLA prevalansının % 3,5 bulunduğu bildirilmiştir. En çok preskapular lenf yumrusunun etkilendiği ifade edilmiştir.

Erganiş ve ark. (25) mezbahada incelenen 15756 koyunun 100'ünde bulunan pürülan lenf yumrularının bakteriyolojik incelemesinde 16 (%0,6) *C. pseudotuberculosis* izolasyon oranını bildirmiştir.

İlhan Z. (85) mezbahada 147 apseli lenf yumrusu dokusundan aldığı örneklerden yaptığı bakteriyolojik ekimde örneklerin 81'inde (%55.1) *C. pseudotuberculosis*'i izole ettiğini bildirmiştir. Bu araştırmanın elde edilen sonuçlara göre *C. pseudotuberculosis*'in kültürde pozitif oranının yüksek bulunması için apse içeriğinden ziyade total apse ekstraksiyonunun yapılması ve apse dokusundan bakteriyolojik kültür yapılması gerektiği kanısına varılmıştır. Bu oranın yaptığımız çalışmadan yüksek bulunmasının sebebinin apseli lenf yumrusu dokusundan bakteriyolojik ekim yapılması ve bu nedenlede çalışmamızda kullandığımız irin örneğindeki diğer patojenlerin varlığı veya *C. pseudotuberculosis*'in irin içinde bulunmamasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada; klinik muayenesi yapılan 2650 koyun içerisinden parotis submandibular, retrofarengeal ve preskapular lenf yumrularından bir veya birkaçı birlikte apseleşmiş 90 koyun araştırmaya dahil edildi. Klinik semptom gösteren koyunların oranı (%3,4) olarak belirlendi. En çok etkilelen lenf yumrusunun sırayla parotis 38 (%42,2), submandibular 18 (%20), retrofarengeal 8 (%8,8), preskapular 2 (%2,2) etkilenmiş olduğu tespit edildi.

Bu çalışmanın bulguları; araştırmacıların (19, 25, 71) bulguları ile benzerlik gösterdiği, araştırmacıların (17, 32, 72, 73, 29, 85, 119, 120, 122) bulgularıyla farklılık arz ettiği görülmüştür.

Parin ve ark. (94) Aydın ilinde klinik olarak 100 koyununun yüzeysel lenf yumrularından aldıkları irin örnekleriyle yaptıkları bakteriyolojik kültürde 17 (%17) *C. pseudotuberculosis* izolasyonuna ek olarak, 22 (% 22) *Staphylococcus spp.* 20 (%20) *Streptococcus spp*, 16 (%16) *Bacillus sp.* ve 13 (% 13) *Pasteurella spp*. izole edildiğini bildirmişlerdir.

Zavoshti ve ark. (124) İran'da mezbahada 468 koyun karkasından aldıkları lenf yumrularının yapılan bakteriyolojik kültüre göre KLA prevalansı 59 olguda (%12,60)

olarak ifade edilmiştir. Ayrıca 12 (%2.56) olguda *Staphylococcus aureus*, 4 (%0,85) olguda *Bacillus* ve 3 (%0,64) olguda hem *C. pseudotuberculosis* hem de *Staphylococcus aureus* izole edildiğini bununla beraber en çok preskapular lenf yumrusunun etkilendiğini bildirilmiştir.

Zamprogna ve ark. (125) Brezilya'da mezbahada 197 koyunun lenfadenitli viseral lenf düğümünde ve 202 sağlıklı viseral lenf düğümünde yaptıkları bakteriyolojik tanımlamaya göre, *C. pseudotuberculosis* (86/197; % 43.7), *Streptococci γ*-hemolitik (17/197; % 8,6) ve *Trueperella pyogenes* (12/197); %6,1), görünüşte sağlıklı lenf düğümlerinden ise *Staphylococci* ( 53 / 202; % 26.2) izole edildiğini bildirmiştir.

Chikhaoui ve ark. (126) Cezair'in Tiaret bölgesinde 4.419 koyun üzerinde yapılan klinik muayenede KLA prevalansı %5,7 olarak bildirilmiştir. En çok etkilenen yüzeyel lenf nodları (%46,1) oranıyla mandibular lenf nodları olduğu ifade edilmiştir. KLA lezyonları gösteren 105 vakadan *C. pseudotuberculosis* (%53,6), *Staphylococcus aureus* (%43) ve *Escherechia coli* (%17,9) ile karışık enfeksiyon olarak izole ettiklerini ifade etmiştir.

Bu çalışmada bakteriyolojik kültürde C. pseudotuberculosis izolasyonuna ek olarak 12/90 (%13,3) *Staphylococcus aureus* 16 (%17.7) *Streptococcus spp* 8 (% 8.8), *Escherechia coli* 6 (% 6.6) izole edilmiştir.

Bu araştırmada bakteriyolojik bulgular araştırmacının (124,126) bakteri türleri ile benzerlik göstersede araştırmacıların ( 94,125) bulgularıyla farklılık arz etmektedir. Bakteri izolasyonunun apse merkezinin neredeyse steril olmasına, bakterinin lezyonlar içindeki dağılımına, enfeksiyonun aşamasına, hayvanın bağışıklık durumuna, antimikrobiyal tedaviye ve diğer bakteriyel ajanların ortamdaki varlığına bağlı olduğu bildirilmiştir (122). Bu çalışmada elde edilen C. pseudotuberculosis izolasyon oranının bu nedenlerle düşük bulunduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu farklılığın yüzeysel lenf yumrularında apse oluşumuna *C. pseudotuberculosis* dışında birçok bakteri türünün neden olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Alves ve ark. (127) Kuzeydoğu Brezilya'da 196 çiftlikten 2312 koyun serumundan yaptıkları ELISA analizlerine göre sürü düzeyinde KLA prevalansını % 91,30 ile %93,35 arasında bulduklarını bildirmişlerdir. Yine Brezilya'da yapılan başka bir araştırma (128) Brezilya'nın Minas Gerais eyaletindeki 108 keçi sürüsünden 676

serum örneği toplanmış ve ELISA analizleri ile KLA seroprevalansı %78,9 olarak bildirmiştir. Aynı ülkede yapılan bir diğer araştırmada 218 çiftlikten 2571 keçinin ELISA analizleri ile KLA seroplevansı en yüksek (%94,5) ve en düşük (%70,3) olarak bulunduğu ifade edilmiştir (129).

Costa ve ark. (130) Portekiz'de 756 küçükbaş hayvandan ELISA analizleri ile KLA prevalansı %34 (258 / 756) olarak ifade edilmiştir.

Selim ve ark. (131) Mısır'ın farklı bölgelerinden alınan 346 koyun serumu örneği ELISA kullanılarak *C. pseudotuberculosis* en yüksek prevalansı Sherbin'de (%83,6), Mansoura (%74,4) ve Belkas'ta (%65,4) değişen oranlarda bulunduğu bildirilmiştir.

Aslan ve ark. (20) Kayseri'de 25 farklı koyun sürüsünden seçilen 379 Akkaraman koyun serumundan yapılan ELISA sonuçlarına göre KLA seroprevalansı 138 (%36,4) olarak bildirilmiştir.

Mevcut çalışmada klinik olarak semptom gösteren 90 koyun serumunda ELISA yöntemiyle PLD antikorları 17 (%18,9) 'sinde pozitif saptanırken, 73 (%81,1) 'ünde antikor saptanmadı.

Mevcut çalışmada koyunlarda ELISA ile saptadığımız %18,9 KLA oranının, diğer araştırıcıların (20,127-131) bildirdiği oranlardan düşük olduğu kaydedildi. Enfeksiyonun prevalansındaki bu farklılıkların nedeninin KLA prevalansı yüksek ülkelerde yetersiz hayvan sağlığı politikalarına ve küçük ruminant yetiştiricilerinin KLA'ya karşı profilaktik önlemlerin almamasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında KLA'ya karşı koyunlarda bağışıklık sisteminin henüz antikor oluşturacak düzeye gelmemesinden dolayı ELISA negatif oranının yüksek olabileceği tahmin edilmektedir.

Costa ve ark. (132) Portekiz'de mezbahada gözlemlenen 335 küçük ruminant hayvanların visseral organlarından aldıkları örneklerle yaptıkları PCR analizinde KLA prevalansını %17,24 olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Nassar ve ark. (118) Brezilya'da mezbahada akciğer, karaciğer, kalp ve mediastinal lenf yumrularında 125 ve saha koşullarında yüzeysel lenf yumruları

apseleşmiş koyunlardan alınan 77 örnek ile yapılan PCR analizleri sonucunda toplam 202 örnekten 110' u (%54) pozitiflik saptandığını bildirmişlerdir.

Jung ve ark. (119) Kore'de klinik muayenede yüzeysel apseleri olan 466 keçiden KLA prevalansını 34 (%7,3) olarak bulmuş daha sonra 34 keçiden aldıkları örneklerle bakteriyolojik kültür yaparak 24 keçide *C. pseudotuberculosis* izole etmişlerdir. PCR analizleriyle 24 (%70,6) örneğin tamamını pozitif saptadıklarını bildirmişlerdir.

Bu araştırmada PCR bulguları araştırmacının (132) bulduğu orandan yüksek, araştırmacıların (118,119) bulgularından düşük olduğu görülmüştür.

Mevcut araştırmada Diyarbakır yöresinde koyunlarda yapılan klinik muayenede yüzeysel lenf yumruları (parotis, submandibular, retrofarengeal ve preskapular) apseleşmiş KLA belirtileri gösteren 90 hasta koyunun lenf yumrularından alınan swap örnekleri PCR yöntemi ile incelenmiş ve örneklerin 26 (%28,8)'inde KLA yönünden pozitiflik saptanmıştır.

## 7. SONUÇ ve ÖNERİLER

1- Bu araştırma ile Diyarbakır yöresinde KLA hastalığının oranı koyunlarda PCR analizleri ile %28,8 olarak bulunmuştur.

2- Türkiye'de KLA bildirimi zorunlu bir hastalık olmadığı için hayvan sahipleri tarafından önemsenmemektedir. Hayvan yetiştiricilerinin yüzeysel apseler için sadece semptomatik tedaviye yönelmeleri ve yeterli profilaktik önlemleri almamaları nedeniyle hastalık yaygınlığını korumaya devam etmektedir.

3- Hastalığın sürülere bulaşma riskini azaltacak en güvenilir profilaktik yöntem, enfekte hayvanların belirlenip sürüden uzaklaştırılması ve sağlıklı hayvanların aşılanmasıdır.

4- KLA'nın kontrolü için aşıların doğru kullanımını sürü sahiplerinin ve teknik personellerinin sürüyü hastalıktan korumaya ve alınacak tedbirler konusunda bilgilendirilmesiyle hastalıkla mücadelede daha çok başarı elde edilebilir.

5- Enfekte sürülerde doğan kuzu ve oğlakların annelerinden ayrılıp, sağlıklı koyun veya keçiden alınan sütle beslenmeleri sağlanmalıdır.

6- Ağıllarda dikenli tel çit, çıkıntılı çiviler ve kenarları pürüzlü besleme olukları gibi KLA'nın bulaşmasına neden olan çevresel tehlikeleri ortadan kaldırmak için önlemler alınmalıdır.

7- Kullanılacak cerrahi ekipmanlarının, kesme bıçakları, etiketleme ekipmanı ve dövme aletlerinin dezenfekte edilmesiyle bakterinin iyatrojenik yayılımı önlenebilir.

8- Sürünün yaşlı koyunlarını oluşturan %10 ile %20 'lik kısmının genç ve sağlıklı hayvanlarla değiştirilmesi ile sürüde enfekte hayvan görülme olasılığını azaltacağı kanaatine varılmıştır.

9- Profilaktik önlemlerin alınmaması ve aşılamanın yaygın olmaması hastalığın üretim ağı boyunca bulaşmasına neden olacağından hayvan sahipleri ve yetiştiricilerine hastalıkla mücadele ile ilgili eğitim verilmesi gerektiği kanaatine varılmıştır. Üreticiler için hastalık kontrolü ve izleme konusunda bilgilendirme ve iyileştirme politikaları teşvik edilmelidir.

10- KLA için hümoral yanıtın yanı sıra dayanıklı bir hücresel yanıtın indüklenmesinin hastalığın kontrolü için büyük fayda sağlayacağı düşünülmektedir. Bu anlamda, *C. pseudotuberculosis* antijenlerinin araştırılması, hücresel bağışıklığın uyarılması, spesifik tanı testlerinin ve daha verimli aşıların geliştirilmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

11- KLA enfeksiyonunun ekonomik önemine ilişkin nicel veriler elde etmek için büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmaların yapılması gerekmektedir. Bu çalışmada elde edilen bulgular ve daha önce yapılan çalışmalar ışığında, bu hastalığın ekonomik etkileri de göz önünde bulundurularak etkili aşılama programları ve alternatif kontrol stratejilerinin geliştirilmesi gibi önlemlerin alınması gerektiği kanısına varılmıştır.

# 8. KAYNAKLAR


1. Fontaine MC, Baird GJ. Caseous Lymphadenitis. Small Rumin Res. 2008; 76 (1-2):42-48.
2. Sakmanoğlu A. Corynebacterium Pseudotuberculosis Fosfolipaz d (PLD) Geninin Aktarımı ve PLD Enziminin Aşı Olarak Kullanılması. S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2015, Konya (Danışman: Prof. Dr. Osman ERGANİŞ).
3. Al-Gaabary MH, SA Osman, AF Oreiby. Caseous Lymphadenitis in Sheep and Goats: Clinical, Epidemiological and Preventive Studies. Small Rumin Res. 2009; 87(1-3):116-121.
4. Dorella FA, Pacheco LGC, Oliveria SC, Miyoshi A, Azevedo V. Corynebacterium Pseudotuberculosis: Microbiology, Biochemical Properties, Pathogenesis and Molecular Studies of Virulence. Vet. Res 2006; 37(2):201-218.
5. Baird GJ, Fontaine MC. Corynebacterium Pseudotuberculosis and Its Role in Ovine Caseous Lymphadenitis. J Comp Pathol. 2007; 137(4):179-210.
6. İlhan Z, Akan M, İzgür M, Akay Ö, Keçeli H. Koyunlarda Corynebacterium Pseudotuberculosis'e Karşı Oluşan Antikorların Hemoliz İnhibisyon Testi ile Saptanması. Etlik Vet Mikrobiyol Derg. 2001; 1(1)1-9.
7. LH Williamson. Caseous Lymphadenitis in Small Ruminants. Vet Clin North Am Food Anim. 2001; 17(2):359-371.
8. Guimaraes A, do Carmo FB, Pauletti RB, Seyffert N, Ribeiro D, Lage AP, MB Heinemann, Miyoshi A, Azevedo V, Gouveia AMG. Caseous Lymphadenitis: Epidemiology, Diagnosis, and Control. IIOAB J. 2011; 2(2):33-43.
9. Oreiby AF, Diagnosis of Caseous Lymphadenitis in Sheep and Goat. Small Rumin Res. 2015; 123(1):160-166.
10. Osman AY, Nordin ML, Kadir AA, Saharee AA. The Epidemiology and Pathophysiology of Caseous Lymphadenitis: A review. J Vet Med Res. 2018; 5(3):1129.

11. Umer M, Abba Y, Jesse F, Sharif A. Caseous Lymphadenitis in Small Ruminants: An Overview on Reproductive İmplications. J Vet Sci Anim Husb. 2017; 2(2):23-31.
12. Batey RG. Pathogenesis of Caseous Lymphadenitis in Sheep and Goats. Aust Vet J. 1986; 63(9):269-272.
13. Bastos BL, Portela RD, Dorella FA, Ribeiro D, Seyffert N, Castro TLDP, Azevedo V. Corynebacterium Pseudotuberculosis: Immunological Responses in Animal Models and Zoonotic Potential. J Clin Cell Immunol. 2012; S4:005.
14. Husband AJ, Watson DL. Immunological Events in the Popliteal Lymph Node of Sheep Following Injection of Liver or Killed Corynebacterium Ovis into an Afferent Popliteal Lymphatic Duct. Res Vet Sci. 1977; 22(1):105-112.
15. Stanford K, Brogden KA, McClelland LA, Kozub GC, Audibert F. The Incidence of Caseous Lymphadenitis in Alberta Sheep and Assessment of Impact by Vaccination with Commercial and Experimental Vaccines. Can Vet J. 1998; 62(1):38-43.
16. Arsenault JO, Girard C, Dubreuil P, Daignault D, Galarneau JR, Boisclair J, Simard C, Belanger D. Prevalence of and Carcass Condemnation from Maedi-visna, Paratuberculosis and Caseous Lymphadenitis in Culled Sheep from Quebec, Canada. Prev Vet Med. 2003; 59:67–81.
17. Paton MW, Walker SB, Rose IR, Watt GF. Prevalence of Caseous Lymphadenitis and Usage of Caseous Lymphadenitis Vaccines in Sheep Flocks. Aust Vet J. 2003; 81:91–95.
18. Shigidi MT. An Indirect Haemagglutination Test for the Sero-diagnosis of C. Ovis Infection in Sheep. Res Vet Sci. 1978; 24:57-60.
19. Cetinkaya B, Karahan M, Atil E, Kalin R, De Baere T, Vaneechoutte M. Identification of Corynebacterium Pseudotuberculosis Isolates From Sheep and Goats by PCR. Veterinary Microbiol. 2002; 88(1):75-83.

20. Aslan Ö, Gümüşsoy KS, Bekdik İK, Akcay A, Demiral ÖO. Seroprevalence of Caseous Lymphadenitis in Kangal Akkaraman Sheep. Turkish J Vet Anim Sci. 2016; 40(6):811-816.

21. Jones D, Collins MD. Irregular, Nonsporing Grampositive Rods. In: Sneath, P.H.A. et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd edn Baltimore: Williams and Wilkins, 1986; p. 1261–1282.

22. Biberstein EL, Knight HD, Jang S. Two Biotypes of Corynebacterium Pseudotuberculosis. Vet Rec. 1971; 89: 691–692.

23. Sutherland SS, Hart RA, Buller NB. Genetic Differences Between Nitrate-Negative and Nitrate-Positive Corynebacterium Pseudotuberculosis Strains Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. Vet Microbiol. 1996; 49: 1–9.

24. Muz A, Eroksuz H, Ongor H, Ertas HB, Kaya A, Kalender H. Microbiological, Serological and Pathological Investigations on The Prescapular Lymph Nodes with Abscesses From Sheep in the Abattoir of Meat and Fish Organisation in Elazig. FU Saglik Bil Derg. 1995; 9, 204–211.

25. Erganis O, Kaya O, Ates M, Istanbulluoglu E. Microbiological Studies on Purulent Lymph Nodes of Sheep Slaughtered at the Abattoir of the Konya Meat and Fish Organisation and a Serological Survey. Veterinarium. 1990; 1(1):8–11.

26. Jolly RD. The Pathogenesis of Experimental Corynebacterium Ovis Infection in Mice. N Z Vet J. 1965; 13:141-147.

27. Minnikin DE, Alshamaony L, Goodfellow M. Differentiation of Mycobacterium, Nocardia, and Related Taxa by Thin-layer Chromatographic Analysis of Whole-organism Methanolysates. J Gen Microbiol. 1975; 88:200-204.

28. Nairn ME, Robertson JP. Corynebacterium Pseudotuberculosis Infection of Sheep: Role of Skin Lesions and Dipping Fluids. Aust Vet J. 1974; 50:537-542.

29. Al-Rawashdeh OF, Al-Qudah KM. Effect of Shearing on the Incidence of Caseous Lymphadenitis in Awassi Sheep in Jordan. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2000; 47: 287-293.

30. İlhan Z. Koyunlarda Corynebacterium Pseudoutuberculosis'in ELISA ve Dot-Blot ELISA ile Teşhisi. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2001, Ankara (Danışman: Prof. Dr. Müjgan İZGÜR).

31. Lacasta D, Fernández A, González JM, Ramos JJ, Ortín A, Ferrer LM. Gangrenouspneumonia, Ovine Respiratory Complex and Visceral Form of Caseous Lymphadenitis: Relevance in Lower Respiratory Tract Disorders of Adult Sheep. Small Rumin Res. 2019; 180:100-105.

32. Stoops SG, Renshaw HW, Thilsted JP. Ovine Caseous Lymphadenitis: Disease Prevalence, Lesion Distribution, and Thoracic Manifestations in a Population of Mature Culled Sheep From Western United States. Am J Vet Res. 1984; 45(3):557-561.

33. Abdullah LN, Jesse FF, Mohammed OA. Isolation and Detection of Corynebacterium Pseudotuberculosis in the Reproductive Organs and Associated Lymph Nodes of Nonpregnant does Experimentally Inoculated Through Intradermal Route in Chronic Form. Veterinary world. 2015; 8(7): 924-927.

34. Othman AM. Reproductive Pathophysiology Chages in Non Pregnant Boer Inoculated With Corynebacterium Pseudotuberculosis VIA Various Routes. (MSc), Universiti Putra Malaysia. 2014.

35. Fontaine MC, Baird G, Connor KM, Rudge K, Sales J, Donachie W. Vaccination Confers Significant Protection of Sheep Against Infection with a Virulent United Kingdom Strain of Corynebacterium Pseudotuberculosis. Vaccine. 2006; 24(33-34): 5986-5996.

36. Hard GC. Electron Microscopic Examination of Corynebacterium Ovis. J. Bacteriol. 1969; 97(3):1480-1485.

37. Brown CC. Caseous lymphadenitis of goats and sheep: a review. Vet Bull. 57 1987; 1-12.

38. Brown CC, Olander HJ, Alves SF. Synergistic Hemolysis-Inhibition Titers Associated with Caseous Lymphadenitis in a Slaughterhouse Survey of Goats and Sheep in Northeastern Brazil. Can J Vet Res. 1987; 51:46–49.

39. Yeruham I, Braverman Y, Shpigel NY, Chizov-Ginzburg A, Saran A, Winklerr M. Mastitis in Dairy Cattle Caused by Corynebacterium Pseudotuberculosis and the Feasibility of Transmission by Houseflies. Vet Q. 1996; 18: 87–89

40. Braverman Y, Chizov-Ginzburg A, Saran A. The role of Houseflies (Musca domestica) in Harbouring Corynebacterium Pseudotuberculosis in Dairy Herds in Israel Rev Sci Tech. OIE (Off Int. Epizoot).1999; 18:681–690.

41. Spier SJ, Leutenegger CM, Carroll SP, Loye JE, Pusterla JB, Carpenter TE, Mihalyi JE, Madigan JE. Use of a Real-Time Polymerase Chain Reaction-Based Fluorogenic 5' Nuclease Assay to Evaluate Insect Vectors of Corynebacterium Pseudotuberculosis Infections in Horses. Am J Vet Res 2004; 65(6):829–834.

42. Peel MM, Palmer GG, Stacpoole AM, Kerr TG. Human Lymphadenitis due to Corynebacterium Pseudotuberculosis: Report of Ten Casesfrom Australia and review. Clin Infect Dis. 1997; 24(2):185-191.

43. Heggelund L, Gaustad P, Havelsrud OE, Blom J, Borgen L, Sundset A, Sorum H, Froland SS. Corynebacterium Pseudotuberculosis Pneumonia in a Veterinary Student Infected During Laboratory Work. Open Forum Infect Dis. 2015; 2(2):1-6

44. Ellis JA, Hawk DA, Holler LD et al. Diferential Antibody Responses to Corynebacterium Pseudotuberculosis in Sheep With Naturally Acquired Caseous Lymphadenitis. J AmVet Med Assoc 1990; 196: 1609–1613

45. Pepin M, Seow HF, Corner L, et al. Cytokine Gene Expression in Sheep Following Experimental İnfection With Various Strains of Corynebacterium Pseudotuberculosis Differing in Virulence. Vet Res 1997; 28: 149-163

46. Pepin M, Fontaine JJ, Pardon P, Marly J, Parodi AL. Histopathology of The Early Phase During Experimental Corynebacterium Pseudotuberculosis Infection in Lambs. Vet Microbiol. 1991; 29: 123- 134

47. Prescott JF, Menzies PI, Hwang YT. An Interferon Gamma Assay for Diagnosis of Corynebacterium Pseudotuberculosis Infection in Adult Sheep From a Research Flock. Vet Microbiol. 2002; 88: 287–297.

48. Paule BJA, Azevedo V, Regis LF, et al. Experimental Corynebacterium Pseudotuberculosis Primary Infection in Goats: Kinetics of IgG and Interferon-γ Production, IgG Avidity and Antigen Recognition by Western Blotting. Vet Immunol Immunopathol 2003; 96: 129–139

49. Lan DTB, Makino S, Shirahata T. Tumor Necrosis Factor and γ Interferon are Required for the Development of Protective Immunity to Secondary Corynebacterium Pseudotuberculosis Infection in Mice. J Vet Med Sci. 1999; 61: 1203–1208

50. El-Enbaawy MI, Saad MM, Selim SA. Humoral and Cellular Immune Responses of a Murine Model Against Corynebacterium Pseudotuberculosis Antigens. Egyptian J Immun. 2005; 12: 13–20.

51. Stefanska I, Gierynska M, Rzewuska M, Binek M. Survival of Corynebacterium Pseudotuberculosis within Macrophagesandinduction of Phagocytes Death. Pol J Vet Sci. 2010; 13(1):143-149.

52. Carne H, Onon EO. Action of Corynebacterium Ovis Exotoxin on Endothelial Cells of Blood Vessels. Nature. 1978; 271: 246-248.

53. Jolly RD. The Pathogenic Action of the Eof Corynebacterium Ovis. J. Comp. Pathol. 1965; 75, 417-431.

54. Simmons CP, Dunstan SJ, Tachedjian M, Krywult J, Hodgson AL, Strugnell RA. Vaccine Potential of Attenuated Mutants of Corynebacterium pseudotuberculosis in Sheep. Infect Immun. 1998; 66: 474-479.

55. JJ Campbell SG. Interaction Between Caprine Macrophages and Corynebacterium Pseudotuberculosis: an Electron Microscopic Study. Am J Vet Res. 1983; 44: 690-693.

56. Paton M, Rose I, Hart R. Post-shearing Affects the Seroincidence of Corynebacterium Pseudotuberculosis Infection in Sheep Flocks. Prev Vet Med 1996; 26:275-284.

57. Bernheimer AW, Campbell BJ, Forrester LJ. Comparative Toxinology of Loxosceles Reclusa and Corynebacterium Pseudotuberculosis. Science. 1985; 228, 590-591.

58. McNamara PJ, Cuevas WA. Songer JG. Toxic Phospholipases D of Corynebacterium Pseudotuberculosis, Corynebacterium Ulcerans and Arcanobacterium Haemolyticum: Cloning and Sequence Homology. Gene. 1995; 156: 113-118.

59. Jesse FFA, Sang SL, Saharee AA, Shahirudin S. Pathological Changes in the Organs of Mice Model Inoculated with Corynebacterium Pseudotuberculosis Organism. Pertanika J Trop Agric Sci. 2011; 34(1):145-149.

60. Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. The Haemopoietic System. In: Valli VEO, Parry BV eds. Pathology of Domestic Animals. 4th ed. United Kingdom: Elsevier Inc;1993. p:238-240.

61. Ferrer LM, Lacasta D, Chacón G, Ramos J, Villa A, Gómez P, et al. Clinical Diagnosis of Visceral Caseous Lymphadenitis in a Salz Ewe. Small Rumin Res. 2009; 87: 126-127.

62. Al-Gaabary MH, El-Sheikh WMA. Epidemiological, Clinical and Preventive Studies on Caseous Lymphadenitis in Sheep and Goats at Gharbia Governorate. In: 10th Sci. Cong. Fac. Vet. Med. Assiut University, Egypt, 2002; pp. 402–417.

63. Dinarello CA. Interleukin-1, Interleukin-1 Receptors and Interleukin-1 Receptor Antagonist. Int Rev Immunol. 1998; 16(5-6):457-499.

64. Burrell DH. Caseous Lymphadenitis in Goats. Australian Veterinary Journal, 1981;57(3), 105-110.

65. Muckle CA and Menzies PI. Caseous Lymphadenitis in Sheep and Goats.: Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice, 3rd Edition, J. Howard, Ed., WB Saunders Company, Philadelphia. 1993; p. 537–541.

66. Murugaiyah M, Wahid SA, Rozimah H. Semen Characteristics in Caseous Lymphedenitis (CI-A) Affected Goats. MARDI Research Journal. 1990; 18(2):245-249.

67. Nabih AM et al. Corynebacterium Pseudotuberculosis Mastitis in Egyptian Dairy Goats.Vet. World 2018; 11.11-1574.

68. Pepin M, Paton MW, Hodgson ALM. Pathogenesis and Epidemiology of Corynebacterium Pseudotuberculosis Infection in Sheep. Curr Top Vet Res. 1994 a; 1:63-82

69. Sayın İlhan F. Koyunların Kazeözlenfadenitis Enfeksiyonunda Patolojik Bulgular. YYU Vet Fak Derg. 2008; 19(1):23-28.

70. Osman AY, Jesse F, Saharee A. Sero-Prevalence of Caseous Lymphadenitis Evaluated by Agar Gel Precipitation Test among Small Ruminant Flocks in East Coast Economic Regions in Peninsular Malaysia. J Animal Vet Adv. 2012; 11: 3474-3480.

71. Selim AM, Atwa SM, El Gedawy AA, Younis EE. Epidemiological, Bacteriological and Molecular Studies on Caseous Lymphadenitis in Sheep of Dakhlia, Egypt. J Anim Sci Biotechnol. 2021; 1-6.

72. Mubarak M, Bastawrows AF, Abdel-Hafeez MM, Ali MM. Caseous Lymphadenitis of Sheep and Goats in Assiut Farms and Abattoirs. Assiut Vet Med J. 1999; 42:89-112.

73. Chirino-Zárraga C, Scaramelli A, Rey-Valeirón C, Bacteriological Characterization of Corynebacterium Pseudotuberculosis in Venezuelan Goat flocks. Small Rumin. Res. 2006; 65, 170-175.

74. Nassar AFC, Miyashiro S, Gregori F, Piatti RM, Daniel GT, Gregory L. Standardization of an Enzyme-linked İmmunosorbent Assay (ELISA) for Detection of Antibodies Anti-Corynebacterium Pseudotuberculosis in Sheep. Small Rumin Res. 2014; 116(2-3):229-232.

75. Sting R, Wagner B, Sari-Tura A, Stermann M, Reule M, Eichner M, Beyer W, Serological Studies on Corynebacterium Pseudotuberculosis Infections in Goats in Baden-Wuerttemberg (Germany) and Seroreactions on Antigens Used for Newly Developed Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA). Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 2012; 125, 67–75

76. Menzies PI, Hwang T I, Prescott J F, Comparison of an Interferon-Gamma to a Phospholipase D Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of Corynebacterium Pseudotuberculosis Infection in Experimentally Infected Goats, Vet Microbiol. 2004; 129-137.

77. Zaki MM, The Application of a New Technique for Diagnosing Corynebacterium Ovis Infection. Res Vet Sci. 1968; 9(6):489-493.

78. Ter Laak EA, Bosch J, Bijl GC et al. Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Immunoblot Analysis Used for Control of Caseous Lymphadenitis in Goats and Sheep. Am J Vet Res. 1992; 53:1125-1132.

79. Dercksen DP, Brinkhof JMA, Dekker-Nooren T et al. A Comparison of Four Serological Tests for the Diagnosis of Caseous Lymphadenitis in Sheep and Goats. Vet Microbiol. 2000;75: 167–175.

80. Kaba J, Kutschke L, Gerlach GF. Development of an ELISA for the Diagnosis of Corynebacterium Pseudotuberculosis Infections in Goats. Vet Microbiol, 2001; 78(2): 155-163.

81. Binns SH, Green LE, Bailey M. Development and Validation of an ELISA to Detect Antibodies to Corynebacterium Pseudotuberculosis in Ovine Sera. Vet Microbiol. 2007; 20:169-179.

82. Meyer R, Regis L, Vale V, Paule B, Carminati R, Bahia R, Freire S. In Vitro IFN-Gamma Production by Goat Blood Cells After Stimulation with Somatic and Secreted Corynebacterium Pseudotuberculosis Antigens. Vet ımmunol ımmunopathol. 2005; 107(3-4):249-254.

83. Shigidi MTA. A Comparison of Five Serological Tests for Diagnosis of Experimental Corynebacterium Ovis Infection in Sheep. Br. Vet. J. 1979; 135: 172-177

84. Pacheco LG, Pena RR, Castro TL, Dorella FA, Bahia RC, Carminati R, Frota MN, Oliveira SC, Meyer R, Alves FS, Miyoshi A, Azevedo V. Multiplex PCR Assay For Identification of Corynebacterium Pseudotuberculosis from Pure Cultures and for Rapid Detection of This Pathogen in Clinical Samples. J Med Microbiol. 2007; 56:480-486.

85. Ilhan, Z. Detection of Corynebacterium Pseudotuberculosis From Sheep Lymph Nodes by PCR Revue de Medecine Veterinaire 2013; 164.2 60-66.

86. Muckle CA, Gyles CL. Characterization of Strains of Corynebacterium Pseudotuberculosis. Canadian Journal of Comparative Medicine.1982; 46:206-208.

87. Judson R, Songer JG. Corynebacterium Pseudotuberculosis: In-Vitro Susceptibility to 39 Antimicrobial Agents. Vet Microbiol. 1991; 27:145-150.

88. Algammal, A. Molecular Characterization and Antibiotic Susceptibility of Corynebacterium Pseudotuberculosis Isolated from Sheep and Goats Suffering from Caseous Lymphadenitis. Zagazig Vet J. 2016; 44(1):1-8.

89. Robaj AVN, Hamidi A, Bytyqi HYSEN, Sylejmani D. Frequency and Antimicrobial Susceptibility of Bacterial Isolates from Caseous Lymphadenitis in Sheep in Kosovo. Bulgarian J Agri Sci. 2017; 23(6):1033-1036.

90. Abebe D, Tessema TS. Determination of Corynebacterium Pseudotuberculosis Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Isolates from Lymph Nodes of Sheep and Goats at an Organic Export Abattoir, Modjo, Ethiopia. Lett Appl Microbiol. 2015; 61(5):469-476.

91. İlhan, Z. Kazeöz Lenfadenitisli Koyunlardan İzole Edilen Corynebacterium Pseudotuberculosis Suşlarının İn-Vitro Antibiyotik Duyarlılıkları. Kocatepe Vet J. 2020; 13(3):267-271.

92. Ismail A, Hamid Y. Studies on The Effect of Some Chemical Disinfectants Used in Veterinary Practice on Corynebacterium Ovis. J Egypt Vet Med Assoc. 1972.

93. Senturk S, Temizel M. Clinical Ecacy of Rifamycin SV Combined With Oxytetracycline in the Treatment of Caseous Lymphadenitis in Sheep. Vet Rec. 2006; 159:216-217

94. Parin U, Kirkan S, Ural K, Savasan S, Erbas G, Gultekin M, Balikci C. Molecular Identification of Corynebacterium Pseudotuberculosis in sheep. ActaVeterinaria Brno. 2018; 87(1):3-8.

95. Smith MC, Sherman DM. Goat Medicine 1st Ed. Lea and Fibiger Publishing Company, Philadelphia. USA, 1994; 144-146.

96. Davis EW. Corynebacterium Pseudotuberculosis Infections in Animals. In: Large Animal Internal Medicine, BP Smith Ed, C.V. Mosby Company; Toronto 1990; 1120-1126.

97. McKinsie D. Treatment of Caseous Lymphadenitis by Intra-Abscess Formalin Injection. In Proceedings of the Third Small Ruminant Medicine Seminar for Veterinarians, Tuskegee, 1999; 61.

98. Sellera FP, Gargano RG, Libera AM, Benesi FJ, Azedo MR, de Sa LR, Pogliani FC. Antimicrobial Photodynamic Therapy for Caseous Lymphadenitis Abscesses in Sheep: Report of Ten Cases. Photodiagnosis Photodyn Ther.2016; 13:120-122.

99. Mohamed MM, Abdelaziz WR, Sayed RH, Ali AF. Gold Nanoparticles Based Assay for Rapid Detection of Caseous Lymphadenitis in Sheep. Adv Anim Vet Sci. 2021; 9(5):709-714.

100. Santos LM, Stanisic D, Menezes UJ, Mendonça MA, Barral TD, Seyffert N, Portela RW. Biogenic Silver Nanoparticles as a Post-Surgical Treatment for

Corynebacterium Pseudotuberculosis Infection in Small Ruminants. Front Microbiol. 2019; 10:824.

101. Michael DP, Douglas WS. Evaluation of a Commercially Available Vaccine Against Corynebacterium Pseudotuberculosis for Use in Sheep. J Am Vet Med. 1998; 212(11):1765-1768.

102. Husband AJ, Watson DL. Immunological Events in the Popliteal Lymph Node of Sheep Following Injection of Liver or Killed Corynebacterium Ovis into an Afferent Popliteal Lymphatic Duct. Res Vet Sci. 1977; 22:105-112.

103. Narin ME, Robertson JP, Quade NC, The Control of Caseous Lymphadenitis in Sheep by Vaccination. Proceedings of the Australian Veterinary Association. 1977; 159-161.

104. VG Johnson, PJ Nicholls. Identification of a Single Amino Acid Substitution in the Diphtheria Toxin a Chain of CRM 228 Responsible for the Loss of Enzymatic Activity. J Bacteriol. 1994; 176(15):4766-4769.

105. De Pinho RB, De Oliveira Silva MT, Bezerra FSB, Borsuk S. Vaccines for Caseous Lymphadenitis: Up-to-Date and Forward-Looking Strategies. Appl Microbiol Biotechnol. 2021;105(6): 2287-2296.

106. Windsor PA, Bush RD. Caseous Lymphadenitis: Present and Near Forgotten From Persistent Vaccination? Small Rumin Res. 2016; 142:6–10.

107. Windsor PA. Control of Caseous Lymphadenitis. Vet Clin N Am Food Anim Pract. 2011; 27:193-202.

108. Eggleton DW, Middleton HD, Doidge CV, et al. Immunisation Against Ovine Caseous Lymphadenitis: Comparison of Corynebacterium Pseudotuberculosis Vaccines with and without Bacterial Cells. Aust Vet J. 1991; 68:317-319.

109. Eggleton DG, Haynes JA, Middleton HD, Cox JC Immunisation Against Ovine Caseous Lymphadenitis: Correlation Between Corynebacterium Pseudotuberculosis Toxoid Content and Protective Efficacy in Combined Clostridial-Corynebacterial Vaccines. Aust Vet J. 1991;68(10):322-325.

110. Piontkowski M, Shivvers D. Evaluation of a Commercially Available Vaccine Against Corynebacterium Pseudotuberculosis for use in Sheep. J Am Vet Med Assoc. 1998; 212:1765-1768.

111. Brum AA, de Fatima Silva Rezende A, Brilhante FS, Collares T, Begnine K, Seixas FK, Collares TV, Dellagostin OA, Azevedo V, Santos A, Portela RW, Borsuk S. Recombinant Esterase From Corynebacterium Pseudotuberculosisin DNA and Subunit Recombinant Vaccines Partially Protects Mice Against Challenge. J Med Microbiol. 2017; 66:635-642.

112. Leal KS, de Oliveira Silva MT, de Fátima Silva Rezende A, Bezerra FSB, Begnini K, Seixas F, Collares T, Dellagostin O, Portela RW, de Carvalho Azevedo VA, Borsuk S. Recombinant M. Bovis BCG Expressing the PLD Protein Promotes Survival in Mice Challenged with a C. Pseudotuberculosis Virulent Strain. Vaccine. 2018; 36:3578-3583.

113. Rezende AFS, Brum AA, Bezerra FSB, Braite DC, Sá GL, Thurow HS, Seixas FK, Azevedo VAC, Portela RW, Borsuk S. Assessment of the Acid Phosphatase CP01850 From Corynebacterium Pseudotuberculosis in DNA and Subunit Vaccine Formulations Against Caseous Lymphadenitis. Braz J Vet Anim Sci. 2020; 72:199-207.

114. Jorge KTOS, Santos TM, Tartaglia NR, Aguiar EL, Souza RFS, Mariutti RB, Eberle RJ, Arni RK, Portela RW, Meyer R. Putative Virulence Factors of Corynebacterium Pseudotuberculosis FRC41: Vaccine Potential and Protein Expression. Microb Cell Fact. 2016; 15:1-13.

115. Dorella FA, Pacheco LG, Seyffert N, Portela RW, Meyer R, Miyoshi A, Azevedo V. Antigens of Corynebacterium Pseudotuberculosis and Prospects for Vaccine Development. Expert Rev Vaccines. 2009; 8:205-213.

116. Paton MW, Sutherland SS, Rose IR, Hart RA, Mercy AR, Ellis TM. The Spread of Corynebacterium Pseudotuberculosis Infection to Unvaccinated and Vaccinated Sheep. Aus Vet J. 1995; 72(7):266–269.

117. Ali AD, Mahmoud AA, Khadr AM, Elshemey TM, Abdelrahman AH. Corynebacterium Pseudotuberculosis: Disease Prevalence, Lesion Distribution,

and Diagnostic Comparison Through Microbiological Culture and Molecular Diagnosis. Alex J Vet Sci. 2016; 51(2): 189-198.

118. Nassar AFD, Daniel GT, Ruiz R, Miyashiro S, Scannapieco EM, Neto JS, Gregory L. Diagnostic comparison of Corynebacterium Pseudotuberculosis Through Microbiological Kulture and PCR in Sheep Samples. Arq Inst Biol. 2016; 82:1-6.

119. Jung BY, Lee SH, Kim HY, Byun JW, Shin DH, Kim D, Kwak D. Serology and Clinical Relevance of Corynebacterium Pseudotuberculosis in Native Korean Goats (Capra hircus coreanae). Trop Anim Health Prod, 2015; 47(4):657-661.

120. Tripathi BN, Kumar J. Sonawane GG, Kumar R, Dixit SK. Microbiological and Molecular Investigation of Clinically Suspected Caseous Lymphadenitis Cases in Goats. Agric Res.2016; 5(4):413-419.

121. Kumar J, Tripathi BN, Kumar R, Sonawane GG, Dixit SK. Rapid Detection of Corynebacterium Pseudotuberculosis in Clinical Samples From Sheep. Trop Anim Health and Prod. 2013; 45(6):1429-1435.

122. Al-Harbi KB. Prevalence and Etiology of Abscess Disease of Sheep and Goats at Qassimregion, Saudi Arabia. Vet World. 2011; 4(11):495.

123. Guimaraes AS, Carmo FB, Heinemann MB, Portela RWD, Meyer R, Lage AP, Seyffert N, Miyoshi A. High Sero-prevalence of Caseous Lymphadenitis Identified in Slaughterhouse Samples as a Consequence of Deficiencies in Sheep Farm Management in the State of Minas Gerais, Brazil. BMC Vet Res. 2011; 7:68.

124. Zavoshti FR, Khoojine ABS, Helan JA, Hassanzadeh B, Heydari AA. Frequency of Caseous Lymphadenitis (CLA) in Sheep Slaughtered in an Abattoir in Tabriz: Comparison of bacterial culture and pathological study. Comp Clin Path. 2012; 21(5): 667-671.

125. De Oliveira Zamprogna T, Ribeiro D, Azevedo VA, Lara GH. Motta BRG da Silva RC, Ribeiro MG. Bacteriological, Cytological, and Molecular

Investigation of Corynebacterium Pseudotuberculosis, Mycobacteria, and Other Bacteria in Caseous Lymphadenitis and Healthy Lymph Nodes of Slaughtered Sheep. Braz J Microbiol. 2021; 52(1):431-438.

126. Chikhaoui M, Khoudja FB. Clinicopathological Investigation on Caseous Lymphadenitis in Local Breed Sheep in Algeria. Trop Anim Health Prod. 2013; 45(7):1641-1643.

127. Alves JRA, de Farias AEM, da Silva JD, Viana MP, Lima AMC, Faccioli-Martins PY, Alves CJ. Factors Associated with the Seroprevalence of Caseous Lymphadenitis in Sheep from Northeastern Brazil. Prev Vet Med. 2020; 182, 105098.

128. Seyffert N, Guimarães AS, Pacheco LG, Portela RW, Bastos BL, Dorella FA, et al. High Seroprevalence of Caseous Lymphadenitis in Brazilian Goat Herds revealed by Corynebacterium pseudotuberculosis Secreted Proteins-based ELISA. Res Vet Sci. 2010; 88: 50-55.

129. Farias AM, Alves JR, Alves FS, Pinheiro RR, Faccioli-Martins PY, Lima A, Alves CJ. Serological Study on Corynebacterium Pseudotuberculosis Infection in Goats in the Brazilian Northeast Using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA-indirect). Pesq Vet Bras, 2018; 38:1344-1350.

130. Costa L, Huerta B, Galán-Relaño Á, Gómez-Gascón L, Almeida A, Viegas I, Maldonado A. Utility Assessment of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Subclinical Cases of Caseous Lymphadenitis in Small Ruminant Flocks. Vet Med Sci. 2020; 6(4):796-803.

131. Selim AM, Atwa SM, El Gedawy AA, Hegazy YM, Rizk MA, Younis EE. Risk Factors Associated with the Seroprevalence of Caseous Lymphadenitis in Sheep. Comp Clin Path. 2021; 30(2):285-291.

132. Costa L, Maldonado A, Huerta B, Almeida A. Optimization of a Conventional PCR Assay for the Identification of Corynebacterium Pseudotuberculosis from Pyogenic Lesions. Int J Vet Sci Anim Husb. 2019; 7(2): 201-210.

# 9. ÖZGEÇMİŞ

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Adı** | Ayşe | **Soyadı** | EKİNCİ YILDIZ |
| **DoğumYeri** | | **DoğumTarihi** | |
| **Uyruğu** | | **Tel** | |
| **E-posta** | | | |

**Eğitim Düzeyi**

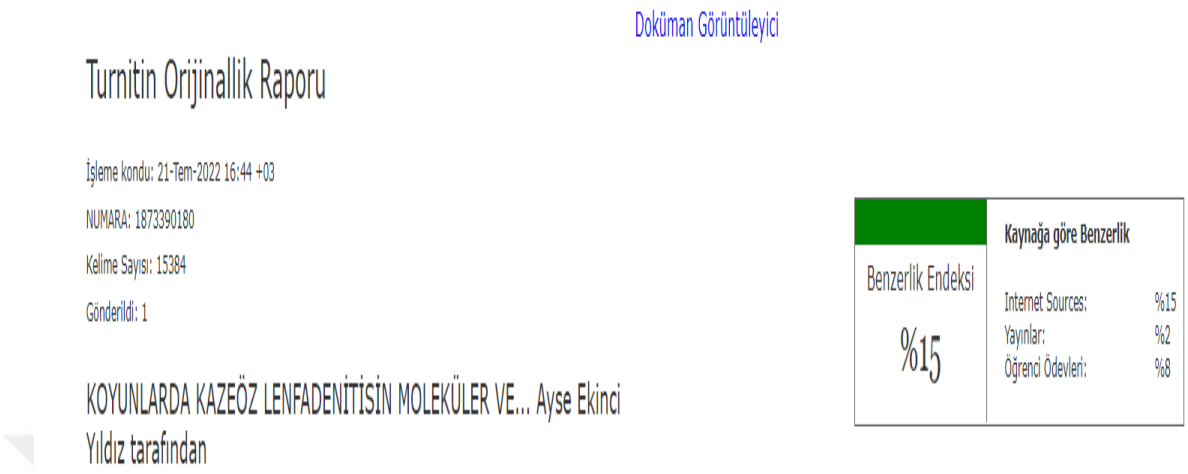
| | **Mezun Olduğu Kurumun Adı** | **MezuniyetYılı** |
|---|---|---|
| **Doktora** | | |
| **Lisans** | | |
| **Lise** | | |

| | **Görevi** | **Kurum** | **Süre (Yıl - Yıl)** |
|---|---|---|---|
| | | | |
| | | | |

| **YabancıDilSınavNotu** | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

| | **Sayısal** | **EşitAğırlık** | **Sözel** |
|---|---|---|---|
| **ALES Puanı** | | | |
| **(Diğer) Puanı** | | | |

# 10. ORİJİNALLİK RAPORU



Doküman Görüntüleyici

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 21-Tem-2022 16:44 +03

NUMARA: 1873390180

Kelime Sayısı: 15384

Gönderildi: 1

KOYUNLARDA KAZEÖZ LENFADENİTİSİN MOLEKÜLER VE... Ayse Ekinci Yıldız tarafından

| Benzerlik Endeksi | Kaynağa göre Benzerlik | |
|---|---|---|
| %15 | Internet Sources: | %15 |
| | Yayınlar: | %2 |
| | Öğrenci Ödevleri: | %8 |