



Derleme

Prototekal Mastitisler

Göksel Erbaş, Uğur Parın, Şükrü Kırkan

Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

ÖZET

Öz bilgi/Amaç: Mastitis, süt ineklerinin meme dokusunun yangısal bir hastalığıdır. Bu meme bezi hastalığı ülkemiz sütçü ineklerinde en sık görülen hastalıktır ve süt endüstrisinde büyük maddi gidere yol açmaktadır. *Prototheca zopfii* (*P. zopfii*) birçok ülkede mastitis salgınlarından sorumlu küresel bir problem olarak tanımlanmaktadır. *P. zopfii* süt ineği çiftliklerinin çevre koşullarında, nemli ortamlarda ve organik materyallerde sıklıkla bulunmaktadır. *P. zopfii*'nin ilk olarak 1952 yılında patojen mastitis etkeni olarak tanımlanmasından bu yana etkenin mastitis vakalarında görülme sıklığı gittikçe artmakta ve yüksek ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Ülkemizde *Prototheca* türlerinin oluşturduğu sığır mastitislerine yönelik bir bildirim henüz rapor edilmemiştir. Çalışmanın amacı, Prototekal mastitislerin etiyolojisi, epidemiyolojisi, tanı ve tedavisi hakkında bilgi vermektir.

Sonuç: *Prototheca* cinsi, doğada saprofit durumda olan ve dışkı, toprak, durgun sular ve bataklıklardan izole edilebilen *P. moriformis*, *P. stagnora*, *P. ulmea*, *P. wickerhamii*, ve *P. zopfii* olmak üzere beş türü barındırmaktadır. Prototekozis zoonoz bir enfeksiyondür. Aynı zamanda *P. zopfii*, ve *P. wickerhamii* insan Prototekozis'inde yer alan etiyolojik ajanlardır. Birçok çalışmada ise sığır mastitislerinden *P. zopfii* genotipe II sorumlu tutulmaktadır. *Prototheca*'ların invitro duyarlılık profilleri incelendiğinde konvansiyonel antimikrobiyal ve antifungallere karşı oldukça dirençli oldukları görülmektedir. Bu mikroalg, rutin mastitis tedavilerine cevap vermemektedir. İnfekte sığırların sürüden elimine edilmesi, Prototekal mastitislerin kontrolü için tek yol gibi gözükmektedir.

Anahtar sözcükler: Mastitis, Prototekozis .

Protothecal Mastitis

ABSTRACT

Background/Aim: Mastitis is the inflammatory diseases of the udder tissue in dairy cattle. This mammary gland infection is the most common disease in dairy cattle in our country. It is also the most costly to the dairy industry. *P. zopfii* (*Prototheca zopfii*) have been described as a global problem with reported in several countries. *P. zopfii* strains are often associated with wet conditions and organic matters, and widely dispersed in dairy environments. Since *P. zopfii* was first identified as a pathogen of bovine mastitis in 1952, the incidence of mastitis due to this microalga is steadily increasing and gaining more and more economic loses. However, bovine mastitis due to this microalga has not been reported in our country. The aim of this study is to give information about aetiology, epidemiology, diagnosis and treatment of Protothecal mastitis.

Conclusion: There are five species of prototheca including *P. moriformis*, *P. stagnora*, *P. ulmea*, *P. wickerhamii*, and *P. zopfii* in the nature in saprophyte form and can be isolated from different environmental sources such as stool, soil, lakes, and mires. Protothecosis is a zoonotic infection. *P. zopfii*, and *P. wickerhamii* are etiological agents of human Protothecosis. Several reports showed that strains of *P. zopfii* genotype 2 were responsible mainly for bovine mastitis. Studies on the in vitro susceptibility profile of the *Prototheca* genus have revealed great resistance to conventional antimicrobial and antifungal agents. These microalgae do not respond to routine mastitis therapy, and the only control measure to date has been the elimination of the infected cows.

Key words: Mastitis, Protothecosis.

Giriş

Mantarların potansiyel patojenitelerinin ispatından bu yana sağlık çalışanlarına teşhis ve tedavi açısından önemli derecede zorluklar yaratan birçok fungal patojen tanımlanmıştır. Klinik olarak sınıflandırılan çeşitli fungal infeksiyonların arasında birçok beklenmeyen oluşum da tartışmalara yol açmıştır. Yeni moleküler çalışmaların var olmasıyla birlikte geleneksel tanımlama metotlarıyla klinik ve histopatolojik yönlerden mantar olarak nitelendirilmiş mikroorganizmalardan bir kısmı farklı gruplarda sınıflandırılmışlardır. Dolayısıyla bunlar pseudofungal infeksiyonlar adı altında ayrı bir kategoride değerlendirilmişlerdir. Bu psödo fungal infeksiyonlar, *Rhinosporidium seeberi*'nin neden olduğu Rhinosporidiosis, bir oomycet olan *Phythium insidiosum*'un neden olduğu infeksiyonlar, *Prototheca* ve *Chlorella* alglerinin infeksiyonlarını kapsar. Bu infeksiyonlar gerçek mantarlar tarafından oluşturulmazlar, fakat etkenlerinin morfolojik özellikleri ve boyanma şekilleri nedeni ile psödo fungal hastalıklar olarak kabul edilirler (Pfaller ve Diekema 2005). Bununla birlikte, psödo fungal grup içerisinde insanlarda ve hayvanlarda ciddi kutanöz ve sistemik infeksiyonlara sebebiyet vermesinden ötürü bir alg olan *Prototheca* genusu en dikkat edilmesi gereken genustur (Jagielski ve Lagneau 2007).

Prototheca genusu, *Chlorella* genusu ile oldukça yakın akrabalık göstermektedir, fakat protothecalar klorofil sentezlememektedirler (Anderson ve Walker, 1988).

Etiyoloji

Günümüzde *Prototheca* genusu içerisinde 5 tür tanımlanmaktadır: *P. zopfii*, *P. wickerhamii*, *P. stagnora*, *P. ulmea* ve *P. blaschkea* (Ricchi ve ark., 2010; Roesler ve ark., 2006). Altıncı bir tür olarak ise *P. moriformis* henüz tartışılmaktadır (Ueno ve ark., 2003). Her ne kadar bu türlerden *P. zopfii*, *P. wickerhamii* ve *P. blaschkea* prototekal mastitiserden sorumlu tutulsa da bir genelleme yapılacak olursa en sık görüleni *P. zopfii* dir (Wawron ve ark., 2013). Diğer iki etken ise sporodik vakalardan sorumlu tutulmaktadır (Marques ve ark., 2006; Marques ve ark., 2008).

Prototheca'lar *P. stagnora* haricinde kapsülsüzdürler. Morfolojik olarak değerlendirildiğinde *P. wickerhamii* yuvarlak ve 2,3 – 13 µm çapında, *P. zopfii* oval, böbrek benzeri ya da yuvarlak ve 4,5 – 25 µm boyutlarındadır. Bu iki türdeki boyut ayrımı dışında endosporlarının görünüşleri arasında da farklılıklar bulunmaktadır. *P. wickerhamii*'nin endosporları simetrik bir görünüme sahipken, *P. zopfii*'de ise gül benzeri oluşumlar dikkati çekmektedir (Ramsay ve ark., 1997). *Prototheca* türlerinin identifikasyonu için izolatların morfolojik ve fizyolojik karakterleri değerlendirilmelidir.

Epidemiyoloji

Prototheca genusu, ineklerde meme infeksiyonlarına (Spalton 1985), köpeklerde göz, bağırsak ve deri infeksiyonlarına, insanlarda sistemik infeksiyonlara (Venezio ve ark., 1982), alabalıklarda granülatöz böbrek hastalıklarına (Smith 1980), tavşan, fare, domuz ve geyiklerde (Spalton 1985) de sistemik infeksiyonlara neden olabilen klorofilsiz, tek hücrelilerden oluşmaktadır. Yapılan çalışmalarda; *Prototheca* sp. sığırlarda lenf düğümleri (Rogers 1974), meme lenf düğümleri, uterus (Frank 1969), gastrointestinal sistem (Tindall ve Fetter 1971) ve böbreklerden (Gedek ve Weber 1978) izole edilmiştir.

Prototheca'lar ilk olarak ağaçlardaki yapışkan salgılardan izole edilmiş, daha sonraları ise doğada bitkiler, toprak, deniz suyu, küf, durgun göl suları, sığır içme suları, sığır ve domuz dışkıları ve çeşitli yüzeylerden izole edilmişlerdir (Anderson ve Walker 1988; Pore ve ark., 1983). Lerche 1952 yılında ineklerde süt

verimini azaltan, süte içi beyaz partiküllü sulu bir görünüm veren mastitise sebep olan ilk vakayı tespit ederek raporlamıştır ve identifiye edilmesinden bu yana bu mikroalgin mastitis vakalarında görülme sıklığı gittikçe artmaktadır (Costa ve ark., 1996; Roesler ve ark., 2003). Prototekal mastitiser klasik tedavilere yanıt vermeyen ve ciddi ekonomik kayıplara yol açan hastalıklar olarak belirtilmiştir (Linguist 1981; Wager 1981).

P. zopfii bir çok ülkede mastitis salgınlarından sorumlu global bir problem olarak tanımlanmasına rağmen (Aalbaek ve ark., 1998; Tortorano ve ark., 2008) ülkemizde bu konuda bir çalışma kaydına rastlanmamıştır. *P. zopfii* süt ineği çiftliklerinin çevre koşullarında, nemli ortamlarda ve organik materyallerde sıklıkla bulunmaktadır (Costa ve ark., 1997; Bueno ve ark., 2006; Buzzini ve ark., 2004). Bu mikroalgin neden olduğu infeksiyon kontamine materyalle direkt temas sonucu yayılmaktadır. Yakın zamana kadar *P. zopfii*'nin I, II ve III olarak isimlendirilen üç biyotipinin varlığı tanımlanmıştır (Roesler ve ark., 2003). 18S rRNA geninin sekans analizleri sonucu bu biyotipler yeniden ele alınarak biyotip I ve II, genotip 1 ve genotip 2 olarak tekrar sınıflandırılmış ve biyotip III ise *P. blaschkea* adı ile yeni bir tür olarak tanımlanmıştır (Roesler ve ark., 2006). Araştırmaların birçoğunda *P. zopfii* genotip 2 suşları sığır mastitiserinden sorumlu olan ana neden olarak tespit edilmiştir (Marques ve ark., 2008; Jagielski ve ark., 2011; Moller ve ark., 2007).

ABD'de bulunan Cornell Üniversitesi araştırmacısı Gonzales, hazırlamış olduğu bir derlemede iki ayrı çalışmasına yer vermiştir (Gonzales 1996). Bu çalışmalara göre Prototekal mastitiserin görüldüğü çiftliklerde çevreden de *Prototheca* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir. *Prototheca* sp. genel olarak dışkıdan ve bu dışkıların kontamine ettiği içme sularından izole edilmişlerdir. Organizma Prototekal mastitiserin bulunduğu çiftliklerdeki dışkıdan sıklıkla izole edilmiştir. *P. zopfii* büyük ihtimalle meme başından girerek hastalıklara sebebiyet vermektedir. Araştırmacıya göre *Prototheca*'ların sebep olduğu mastitiser süt sağımı sırasında inekten ineğe bulaşarak büyük ekonomik kayıplara sebebiyet vermektedir (Gonzales 1996).

Tanı

Eğer Prototekal mastitisten şüpheleniliyorsa mutlaka mikrobiyolojik kültür ve identifikasyon ile doğrulamak gereklidir. Prototekal mastitis vakaları kolaylıkla mantarların neden olduğu vakalar ile karıştırılabilir çünkü koloni yapıları oldukça benzerlikler göstermektedir. Ayrım için çok dikkatli bir mikroskopik inceleme yapmak gerekir, *Prototheca* kolonileri endosporlar ile dolu veya boş olarak göze çarpar. Aynı zamanda *Prototheca*'ların izolasyonu için *Prototheca* zenginleştirme metodu da tavsiye edilmektedir (Pore ve ark., 1987; Gonzales 1996).

Prototheca'lar laboratuvar ortamında rutinde kullanılan birçok besiyerinde kolaylıkla üretilmektedirler. Saboraud Dextroz Agar (SDA)'da 24-72 saatte 25-35 °C'de genellikle smooth, beyaz-bej renkli yeast benzeri, Kanlı agar'da ise 37 °C'de 24-36 saatte krem-beyaz ya da gri-beyaz renkli, yüzeye yapışmış mantar benzeri koloniler meydana getirirler (DiPersio 2001). Besiyerindeki üreme 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda, cycloheximide ve amphotericin B ve ketoconazole gibi birçok antifungalın varlığında inhibe olmaktadır. Protein sentezinin tipik inhibitörlerinden olan streptomycin ve penicilin ise *Prototheca* sp. üremesini etkilememektedir (Patni ve Aaronson 1974). Sütten ve çevresel yüzeylerden izolasyonu için selektif *Prototheca* besiyerleri (PIM, PEM) kullanılması tavsiye edilmektedir (Pore 1973; Pore ve ark., 1987).

Prototheca türlerinin ayırımında morfolojik kriterler kullanılabilmesine rağmen, in vitro kültürlerdeki akışkanlık altında ayırımın zor olmasından dolayı morfolojik ayırım tek başına yeterli olmamaktadır (Pore 1985). Bundan dolayı

Tablo1. En çok görülen üç *Prototheca* türünün teşhis kriterleri (Jagielski ve Lagneau 2007).
Table 1. The common diagnosis criteria of 3 *Prototheca* genus (Jagielski ve Lagneau 2007).

	Koloni görünümü	Mikroskopik görünüm	Kullanım					37°C'de Üreme
			Glukoz	Galaktoz	Sukroz	Trehaloz	Propanol	
<i>P. wickerhamii</i>	Beyaz-Krem Smooth	13 µm'ye kadar yuvarlak hücreler	+	+	-	+	-	+
	Beyaz-Krem görünümlü	Değişik şekillerde 30 µm'ye kadar	+	-	-	-	+	+
<i>P. zopfii</i>	Rough görünümlü	Değişik şekillerde	+	+	+	-	-	-
	Beyaz Mukoid ve/veya visköz	hücreler						

+:fermentasyon gösterir, + : 14. günden sonra fermentasyon gösterir, -fermente olmaz

koloni ve hücre morfolojisi sonuçları mutlaka karbonhidrat fermentasyon testleri ile desteklenmelidir. *P. stagnora*, *P. zopfii* ve *P. wickerhamii*'nin ayırımında çeşitli şeker ve alkoller kullanım durumları değerlendirilmektedir. *P. wickerhamii* ve *P. zopfii*'nin ayırımında trehalose kullanımı esas kriterdir (Tablo1). Buna benzer şekilde *P. zopfii*'nin dirençli olduğu 50µg clotrimazole disk testine *P. wickerhamii* duyarlıdır (Casal ve Gutierrez 1983). Bunun yanında *Prototheca* türlerini belirlemede direkt immunofloresan metodu ve tür-spesifik antiserumların kullanılması da mümkündür (Sudman ve Kaplan 1973).

İdentifikasyonlarında besiyerindeki morfolojileri, Gram ve metylen mavisi ile boyanmaları, biyokimyasal karakterleri bize önemli ipuçları sağlamaktadır. Bunun yanında API 20 C sistemi (bioMerieux Vitek) gibi otomatize ve hızlı tanı kitleri de türlerin identifikasyonunda kullanılabilir (Spalton 1985).

Tedavi

Prototekal mastitisli hayvanlarda sağaltım için iyi bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır ve hastalıklı hayvanların sürüden uzaklaştırılmalıdır. Bu yolla diğer hayvanların da hastalığa yakalanmaları ve çevrenin kontaminasyonu önlenmeye çalışılır. Çevrede bulunan su birikintileri ve gübre kalıntıları uzaklaştırılmalıdır. Çiftliğin drenajının uygun bir şekilde yapılması da mikroorganizma sayısının azaltılmasında etkili olmaktadır (Gonzales 1996).

Prototheca genusunun in vitro antibiyotik duyarlılık çalışmaları bu genusun antimikrobiyal ve antifungal ajanlara karşı oldukça dirençli olduğunu göstermektedir. Bu mikroalg, rutin mastitis tedavilerine cevap vermemektedir. Bununla birlikte, önceden yapılmış bazı çalışmalarda etkenin insanlardaki Prototekozis tedavisinde kullanılan amphotericin B ve nystatin'e karşı duyarlı olduğu bildirilmektedir (Jian ve ark, 2012).

Wawron ve ark (2013) sığır mastitislerinden izole ettikleri *P. zopfii* suşları ile yapmış oldukları ve bu mikroorganizmaların antimikrobiyal ve antifungal dirençlerinin incelendiği çalışmada tüm suşlar clotrimazole, fluconazole, econazole, flucytosine, cefoperazone, cephalixin, enrofloxacin, lincomycin, ve oxytetracycline etken maddelerine tam dirençli bulunurken, miconazol'e % 92,6 oranında dirençli tespit etmişlerdir. Bunun yanında nystatin'e % 88,9, ketoconazol'e % 51,9 ve de amphoteracin B'ye ise % 48,1 oranında duyarlılık tespit etmişlerdir. Antibiyotik gruplarında ise gentamisin'e %96,3, kanamisin'e % 92,6 ve de polimiksin B'ye ise % 59,3 oranında duyarlılık olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç

Süt sığırı yetiştiriciliğinde mastitis infeksiyonları büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Mastitislerin etiolojisinde bakteriyel infeksiyonların yanında mantar ve mantar benzeri

infeksiyonları oluşturan etkenlerin de göz ardı edilmemesi gerekmektedir. Özellikle mastitislerde yoğun ve bilinçsiz antibiyotik kullanımları, göz ardı edilen mantar ve mantar benzeri infeksiyonların inatçı bir şekilde seyretmesine neden olmaktadır. Bu nedenle *Prototheca* sp. kökenli mastitislerin, günümüzde varlığına yönelik araştırmaların yapılması, söz konusu etiyojik ajanın yol açtığı ekonomik kayıpların aza indirgenmesi açısından önem arz etmektedir.

Kaynaklar

- Aalbaek B, Jensen HE, Huda A (1998). Identification of *Prototheca* from bovine mastitis in Denmark. APMIS.106(4): 483–8.
- Anderson KL ve Walker RL (1988). Sources of *Prototheca* sp. in a dairy herd environment. J. Am. Vet. Med. Assoc. 193:553.
- Bueno VF, de Mesquita AJ, Neves RB, de Souza MA, Ribeiro AR, Nicolau ES, de Oliveira AN (2006). Epidemiological and clinical aspects of the first outbreak of bovine mastitis caused by *Prototheca zopfii* in Goia's State, Brazil. Mycopathologia. 161(3):141–5.
- Buzzini P, Turchetti B, Facelli R, Baudino R, Cavarero F, Mattalia L, Mosso P, Martini A (2004). First large-scale isolation of *Prototheca zopfii* from milk produced by dairy herds in Italy. Mycopathologia. 158(4):427–30.
- Casal MJ ve Gutierrez J (1983). Simple new test for rapid differentiation of *Prototheca wickerhamii* from *Prototheca zopfii*. J Clin Microbiol. 18:992–3.
- Costa EO, Carciofi AC, Melville PA, Prada MS, Schalch U (1996). *Prototheca* sp. outbreak of bovine mastitis. Zentralbl Veterinärmed B. 43(6):321–4.
- Costa EO, Melville PA, Ribeiro AR, Watanabe ET, Parolari MC (1997). Epidemiologic study of environmental sources in a *Prototheca zopfii* outbreak of bovine mastitis. Mycopathologia. 137(1):33–6.
- DiPersio JR (2001). *Prototheca* and protothecosis. Clin Microbiol Newsl 23:115-20.
- Frank N, Ferguson LC, Cross RF, Redman DR (1969). Protothecosis, a case of bovine mastitis. Am. J. Vet. Res. 30:1785.
- Gedek B ve Weber A (1978). *Prototheca*-mastitiden beim rind als bestandsproblem. Tierarztl. Prax. 6:441.
- Gonzales RN (1996). *Prototheca*, Yeast, and Bacillus as a Cause of Mastitis. Cornell University, Ithaca, New York, 1996 National Mastitis Council Annual Meeting, Page 82.
- Jagielski T, Lassa H, Ahrholdt J, Malinowski E, Roesler U (2011). Genotyping of bovine *Prototheca* mastitis isolates from Poland. Vet Microbiol. 149(1–2):283–7.
- Jagielski T. ve Lagneau PE (2007). Protothecosis. A pseudofungal infection. Journal of medical mycology 17, 261-270.
- Jian G, Han-qi Z, Jian-zhong H, Yang-hua H, Shu-mei L, Rong-guang H, Qiao-xing W, Yang G, Bo H (2012). Characterization of *Prototheca zopfii* Associated with Outbreak of Bovine Clinical Mastitis in Herd of Beijing, China Mycopathologia 173:275–281
- Lerche M (1952). Elenen durch algen (*Prototheca*) herorgerefunne mastitis der kuh. Berl. Muench. Tieraerztl. Wochenschr. 65:64.

- Linquist WE (1981). *Prototheca* mastitis. A case report. Proc. 20th Annual Meeting of the National Mastitis Council, pp 161-163.
- Marques S, Silva E, Carvalheira J, Thompson G (2006). Short communication: In vitro antimicrobial susceptibility of *Prototheca wickerhamii* and *Prototheca zopfii* isolated from bovine mastitis. J Dairy Sci. 89(11):4202-4.
- Marques S, Silva E, Carvalheira J, Videira A, Huss VA, Thompson G (2008). Bovine mastitis associated with *Prototheca blaschkeae*. J Clin Microbiol. 46(6):1941-5.
- Moller A, Truyen U, Roesler U (2007). *Prototheca zopfii* genotype 2: the causative agent of bovine protothecal mastitis. Vet Microbiol. 120(3-4):370-4.
- Patni NJ, Aaronson S (1974). The nutrition, resistance to antibiotics and ultrastructure of *Prototheca wickerhamii*. J Gen Microbiol 83:179-82.
- Pfaller MA, Diekema DJ (2005). Unusual fungal and pseudofungal infections of humans. J Clin Microbiol. 43:1495-504.
- Pore RS, Barnett EA, Barnes Jr WC, Walker JD (1983). *Prototheca* ecology. Mycopathologia 81:49.
- Pore RS (1985). *Prototheca* taxonomy. Mycopathologia 90: 129-39
- Pore RS (1973). Selective medium for isolation of *Prototheca*. Appl. Microbiol. 26:648.
- Pore RS, Shahan TA, Pore MD, Blauwiekel R (1987). Occurrence of *Prototheca zopfii*, a mastitis pathogen, in milk. Vet. Microbiol. 15:315.
- Ramsay E, Chandler FW, Connor DH (1997). Protothecosis. In: Connor DH, Chandler FW, Schwartz DA, Manz HJ, Lack EE, editors. Pathology of infectious diseases. Stamford Conn.: Appleton & Lange; p. 1067-72
- Ricchi M, Goretti M, Branda E, Cammi G, Garbarino CA, Turchetti B, Moroni P, Arrigoni N, Buzzini P (2010). Molecular characterization of *Prototheca* strains isolated from Italian dairy herds. J Dairy Sci. 2010;93(10):4625-31.
- Roesler U, Hensel A (2003). Longitudinal analysis of *Prototheca zopfii*-specific immune responses: correlation with disease progression and carriage in dairy cows. J Clin Microbiol. 41(3):1181-6.
- Roesler U, Moller A, Hensel A, Baumann D, Truyen U (2006). Diversity within the current algal species *Prototheca zopfii*: a proposal for two *Prototheca zopfii* genotypes and description of a novel species, *Prototheca blaschkeae* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 56(Pt6):1419-25.
- Rogers RJ (1974). Protothecal lymphadenitis in an ox. Aust. Vet. J. 50:281
- Smith CG (1980). Ultrastructural studies of *Prototheca salmonis* and comparison with known isolates in *Prototheca*. Mycopathologia 71:95.
- Spalton DE (1985). Bovine mastitis caused by *Prototheca zopfii*: A case study. Vet. Rec. 116:347.
- Sudman MS, Kaplan W (1973). Identification of the *Prototheca* species by immunofluorescence. Appl Microbiol. 25:981-90.
- Tindall JP, Fetter BF (1971). Infections caused by achloric algae (protothecosis). Arch. Dermatol. 104:490.
- Tortorano AM, Prigitano A, Dho G, Piccinini R, Dapra V, Viviani MA (2008). In vitro activity of conventional antifungal drugs and natural essences against the yeast-like alga *Prototheca*. J Antimicrob Chemother. 61 (6):1312-4
- Ueno R, Urano N, Suzuki M (2003). Phylogeny of the non-photosynthetic green micro-algal genus *Prototheca* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) and related taxa inferred from SSU and LSU ribosomal DNA partial sequence data. FEMS Microbiol Lett. 223(2):275-80.
- Venezio FR, Lavoo E, Williams JE, Zeiss CR, Caro WA, Mangkornkanok-Mark M, Phair JP (1982). Progressive cutaneous protothecosis. Am. J. Clin. Pathol. 77:485.
- Wager LA (1981). Mycoplasma and *Prototheca* infections. Refractory mastitis on the increase. Proc. 20th Annual Meeting of the National Mastitis Council, pp 156-160.
- Wawron W, Bochniarz M, Piech T, Wysocki J, Kocik M (2013). Antimicrobial susceptibility of *Prototheca zopfii* isolated from bovine mastitis. Bull Vet Inst Pulawy 57, 485-488.