

## KARS YÖRESİNDE KOYUN PNÖMONİLERİNDEN MİKOPLAZMALARIN İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU VE ANTİBİYOTİKLERE OLAN DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ\*

Isolation, identification and antibiotic sensitivity of  
mycoplasmas from sheep pneumonia in Kars District.

Salih OTLU\*\*

### ÖZET

Bu araştırmada, Kars yöresinde koyun pnömonilerinden mikoplazmaların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının saptanması amaçlandı.

Çalışmada, Ocak 1995-Aralık 1995 tarihleri arasında Kars Belediye Mezbahası'nda kesilen 1354 koyuna ait akciğerlerin, makroskopik olarak incelenmesi sonucu pnömonik bulunan (verminöz pnömoni hariç) 120 akciğer ile Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na teşhis amacıyla getirilen 127 pnömonik koyun akciğeri olmak üzere toplam 247 pnömonik koyun akciğeri kullanıldı. Akciğer örneklerinin PPLO agar ve buyyona ekimleri sonucu, 61' inden (%24.69) mikoplazma suşu izole edildi. Çalışmada değerlendirilen 30 sağlıklı koyun akciğerlerinden ise mikoplazma izole edilemedi.

Pnömonik akciğerlerden izole edilen 61 mikoplazma suşusunun koloni morfolojisi, glikoz fermentasyonu, arginin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşum fosfataz testi, hemoliz testi ve üreme inhibisyon testi ile 43'ü (%70.5) *M.arginini*, 18'i (%29.5) *M.ovipneumoniae* olarak tanımlandı.

Yapılan antibiyotik duyarlılık testinde, 43 *M.arginini* suşunun 42'si (%97.67) enrofloksasine, 40'ü (%93.02) danofloksasine, 40'i (%93.02) oksitetrasikline, 39'u ampisiline, 7'si (%16.27) eritromisine duyarlı, tüm suşlar ise streptomisine dirençli bulundu. Onsekiz *M. ovipneumoniae* suşunun tümünün (%100) enrofloksasine, 17'sinin (%94.44) oksitetrasikline, 16'sinin (%88.88) danofloksasine, 16'sinin (%88.88) ampisiline 2'sinin (%11.11) eritromisine duyarlı, test edilen suşların tümünün ise streptomisine dirençli olduğu saptandı.

Araştırmada 247 pnömonik akciğerin 71'inde (%28.74) toplam 81 bakteri suşu izole edildi. Bu suşların 56'sı (%69.13) *P. haemolytica*, 11'i (%13.58)

\* Aynı başlıklı Doktora tezinden özetlenmiştir.

\*\* KAÜ., Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KARS

Staphylococcus sp., 5'i(%6.17) Streptococcus sp., 5'i (%6.17) E. coli, 4'ü (%4.93) B.anthraxis olarak identifiye edildi.

Pnömonik akciğerlerden tek başına yada diğer etkenlerle birlikte yüksek oranda izole edilen mikoplazmaların, koyun pnömonilerinin oluşumunda primer bir etiyolojik rol oynayabileceği kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Koyun, pnömoni, mikoplazma, izolasyon, identifikasyon, antibiyotik duyarlılığı.

## SUMMARY

The aim of this study was isolation, identification and to determine antibiotic sensitivity of mycoplasmas from sheep pneumonia in Kars District.

One thousand thirty hundred fifty four sheep lungs were examined macroscopically slaughtered animals at Kars Municipality Abattoire between January 1995 December 1995. One hundred twenty out of 1354 sheep lungs were pneumonic macroscopically. The other hand 127 pneumonic sheep lungs were used in this study, brought to Microbiology Department for the diagnosis. So 247 pneumonic lungs were used. In the other hand 30 normal lungs were also used.

Sixty one mycoplasma strains were isolated from 61 of 247 (24.69 %) pneumonic lungs. Thirty five out of 61 (57.37 %) isolated mycoplasma strains from 30 normal lungs.

Isolated mycoplasma strains were identified with using following tests : Colony morphologies, fermentation of glucose, hydrolysis of arginine, reduction of tetrasolium film and spot production, phosphatase, haemolysis and growth inhibition. Fourty three of 61 (70.51%) M.arginini and 18 of 61 (29.5 %) M.ovipneumoniae were identified with above tests.

In antibiotic sensitivity test 42 out of 43 (97.67%) M.arginini strains to enrofloxacin, 40 (93.02 %) danofloxacin, 39 (90.69%) ampicillin, 7 (16.27%) erythromycin were sensitive, but all strains were found resistant to streptomycin. All of the 18 M. ovipneumoniae strains (100%) to enrofloxacin, 17 (94.44%) to oxytetracycline, 16 (88.88%) danofloxacin, 16 (88.88%) to ampicillin, 2 (11.11%) erythromycin were sensitive. All the strains were found resistant to streptomycin.

From the 71 of 247 (28.74%) pneumonic lungs, totally 81 bacteria strains were isolated. This strains were identified as follows; 56 (69.13%) P.haemolytica, 11 (13.58%) Staphylococcus spp., 5 (6.17%) Streptococcus spp., 5(6.17%) E. coli and 4 (4.93%) B.anthraxis.

It was suggested that mycoplasmas isolated with alone or together other agents from pneumonic lungs could be primarily etiological agent in the pneumonia.

**Key words :** Sheep, pneumoniae, mycoplasma, isolation, identification, antibiotic susceptibility.

## GİRİŞ

Koyun hastalıkları arasında büyük bir yer tutan pnömoni; genellikle bronşiyol ve alveolleri kapsayan akciğer dokusunun yangısı olup (11,37,41); bakteriler, mikoplazmalar (9,24), virüsler, klamidyalar, mantarlar ve parazitler (23,41) tarafından meydana getirilen polietiyolojiye sahip bir infeksiyondur. Ayrıca bakım ve besleme hataları, ani iklim değişiklikleri, tozlu havanın solunması, yorgunluk, sıkışık barındırma, açlık, vücudun direncini azaltan diğer hastalıklar nakil ve stres gibi organizmanın genel ve lokal savunma sistemini zayıflatan birçok faktör pnömoninin hazırlayıcı nedenleri arasında kaydedilmektedir (11,21,41).

Koyunlarda gözlenen nonprogressif pnömoni; genellikle bir yaşına kadar nadiren daha yaşlı koyunlarda oluşan kronik (21), çoğunlukla subklinik seyirli (11) mortalitesi düşük bir infeksiyöz hastalıktır (24,47). Hastalığın tanımı ilk kez 1963 yılında Stamp ve Nisbet (35) tarafından patolojik bulgulara dayanarak yapılmış ve "Öldürücü Enzootik Pnömoni"den ayrı olarak ele alınarak Atipik Pnömoni olarak adlandırılmıştır.

Koyunlarda oluşan atipik pnömoninin primer etkisinin Mycoplasma ovipneumoniae olduğu (5,21,23,27) çoğu olgularda Pasterurella haemolytica'nın da sekonder olarak infeksiyona katıldığı (6,23) ve hastalığın şiddetini artırdığı bildirilmektedir. Infeksiyonun etiolojisine yönelik olarak araştırma yapılan bir çok ülkede hastalık olgularından Mycoplasma arginini ve diğer bazı mikoplazma türleri de izole edilmekte (2,26,36) fakat bu etkenlerin hastalığı oluşturmadaki rolü hala tartışılmaktadır. Koyunların solunum sistemi hastalıklarından daha az sayıda olmak üzere Staphylococcus spp. (23,36), Streptococcus spp., Klebsiella spp., P.multocida (41) Chlamydia psittaci, Koliform bakteriler, C. pyogenes (5,9,36) Acholeplasma laidlawii ve Ureaplasmalar (13) gibi bakteriler de izole edilmektedir.

Koyun pnömonilerinden mikoplazmaların ilk izolasyonu 1955 yılında Greig(19) tarafından Kanada'da bildirilmiş, aynı yıl içerisinde Durusan ve Doğer (16) Türkiye'de kuzuların pnömonik akciğerlerinden mikoplazma izole etmişlerdir.

Mikoplazmalar evcil hayvanların tümünde patojen, kommensal yada saprofitik bir yaşam sürdürmekte mukozal yüzeylere kolonize olarak solunum

sistemi, ürogenital sistem ve gastrointestinal sistemden izole edilmektedir (20,32,93). Evcil hayvanlarda ve insanlarda mikoplazmaların sebep oldukları bilinen hastalıklar genel olarak; 1-Septisemi 2-Henüz tam olarak ortaya konamamış mikoplazmaemik fazi takip ederek oluşan eklemlerde ve/veya serozal boşluklarda yangı ve lokalizasyon3-Solunum sistemi, genital sistem, meme bezleri veya konjunktivanın lokal infeksiyonları olarak gruplandırılmaktadır (32).

Koyunların subakut ve kronik pnömonilerinden mikoplazma suşlarının izole edildiğini bildiren birçok araştırma mevcuttur. Popovic ve ark (28) pnömonik 32 kuzu akciğerlerinden 26 (%81), pnömonik 45 koyun akciğerinden ise 25 (%56) mikoplazma suşu izole etmişlerdir. Pasic ve ark. (27) pnömonili 77 koyun akciğerinden 51 mikoplazma suşu izole ettiklerini bunların 35'inin M.ovipneumoniae, 14'ünün M.arginini, 2'sinin Acholeplasma laidlawii olduğunu belirtmişlerdir. Tabatabayı ve ark. (36) subakut ve kronik pnömonili 62 koyun akciğerinin 49'undan (%79), normal akciğerlerin ise %6.5'inden M.arginini ayırdıklarını ayrıca bazı akciğerlerden P. multocida, P.haemolytica, Streptococcus sp., Corynebacterium sp. gibi bakterilerinde izole edildiğini belirterek primer etkenin M.arginini olduğunu diğer bakterilerin ise sekonder etken olduğunu bildirmişlerdir. Chaturvedi ve ark. (13), yaş farkı gözetmeksizin koyunlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 32 nazal ve 41 trakeal swap ile 102 pnömonik akciğer materyali olmak üzere toplam 175 numueden sırasıyla %28.1., %26.8 ve %21.5 oranında Mycoplasma ve Acholeplasma izole ettiklerini ve koyunların solunum sistemi hastalıklarında mikoplazmaların önemli bir etken olduğunu, Bakke ve ark. (6) subakut veya kronik pnömoni belirtileri gösteren kuzular ile sağlıklı kuzuların kesim sonrasında, akciğerleri üzerinde yaptıkları çalışmada, hasta kuzuların akciğerlerinde %98, sağlıklı kuzuların akciğerlerinde ise %28 oranında M.ovipneumoniae izole ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar sağlıklı kuzuların akciğerlerinde %18, pnömonili olanlarda ise %49 oranında Pasteurella haemolytica izole edildiğini bu sonuçların subakut ve kronik pnömonilerde M.ovipneumoniae'nin önemi ortaya koyduğunu, P.haemolytica gibi bakterilerin sekonder etken olduklarını öne sürdükleri çalışmada, M.arginini ve viral etkenlere yönelik yapılan yoklamaların negatif olduğunu belirtmişlerdir. Bakke(5) subacut ve kronik pnömonili koyunlara ait akciğerlerden %87 normal akciğerlerden ise %6 oranında M.ovipneumoniae izole edildiğini, P.haemolytica'nın ise daha düşük oranlarda ve genellikle M.ovipneumoniae ile birlikte izole edildiğini belirterek M.ovipneumoniae'nin primer etken olduğunu bildirmiştir. Gharogzlou ve ark. (39)subakut ve kronik pnömonili koyunlara ait 88 akciğerin 56'sından M.arginini izole edildiğini bunların 34'ünün P.multocida gibi diğer bakterilerle birlikte bulunduğunu bildirmişlerdir.

Mikoplazmaların neden olduğu infeksiyonlarda klinik ve patolojik bulgular hastalığı tanımlamada yeterli olmadığından dolayı kesin teşhis ya dokulardan

etkenin izolasyonunu gerçekleştirerek direkt (13,26,36) yada etkene karşı oluşmuş antikorları saptayarak indirekt (10,22) olarak yapılmaktadır. Mikoplazma türlerinin identifikasyonu, glikoz fermentasyonu (31,39), arjinin hidrolizi (7), fosfataz testi (12), tetrazolium redüksiyonu (33), film ve spot oluşumu (40), metilenmavisi redüksiyonu, hemoliz testi ve üreme inhibisyon testi (3,10,14) gibi yöntemlerle yapılmaktadır. Mikoplazmaları *Acheloplasma*'lardan ayırt etmek için dijitonine duyarlılık testi (17,38) *Ureaplasma*'lardan ayırt etmek için ise üreaz testinden (30) yararlanılmaktadır.

Koyunlarda mikoplazmalardan ileri gelen solunum sistemi infeksiyonları, izole edilen suşların duyarlılık testleri yaptıkları sonra, duyarlı bulunan antibiyotiklerin kullanılmasıyla sağaltılabilmektedirler (11). Hastalığın tedavisinde en etkili antibiyotiklerin tylosin ve tiamulin olduğu, tiamulin ve tylosinin birlikte 3 gün süreyle 10 mg/kg dozda uygulanmasıyla lezyonların gerilediği bildirilmektedir (11,37). Arısoy ve ark. (4) koyun ve keçilerden izole ettikleri 15 mikoplazma suşunun in vitro olarak tylosin, eritromisin ve oksitetrasikline karşı duyarlılıklarını araştırdıkları bir çalışmada tylosinin diğerlerine göre daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Mikoplazmaların penisilin ve sulfonamidlere dirençli oldukları, tetrasiklin, gentamisin, kanamisin ve eritromisinin bazı infeksiyonlarda etkili olduğunu bildirilmektedir. Kaya ve ark. (23) kuzu akciğerlerinden izole edilen mikoplazma suşu üzerindeki Linco-spectin, eritromisin, ampisilin, trimethoprim+sulpamethaxazole, sefalosporin ile yaptıkları antibiyotik duyarlılık testinde en etkili antibiyotiklerin sırayla linco-spectin, ampisilin ve eritromisin olduğunu bildirmişlerdir.

Yurdumuzda konuyla ilgili çalışmalar az sayıda da olsa mevcut olup yöremizde ise pnömoni vakalarının çok yaygın olmasına karşın yapılan literatür taramalarında konuyla ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, Kars yöresinde koyun pnömonilerinden mikoplazmaların izolasyonu identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

Çalışmada Ocak 1995-Aralık 1995 tarihleri arasında Kars Belediye Mezbahasında kesilen 1354 koyuna ait akciğerlerin, makroskopik olarak incelenmesi sonucu pnömonik bulunan (verminöz pnömoni hariç) 120 (%8.86) adet koyun akciğeri ile Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonili koyun akciğeri olmak üzere toplam 247 adet akciğer örneği kullanıldı. Ayrıca, Kars Belediye Mezbahası'ndan elde edilen 30 sağlıklı koyun akciğeri de mikoplazma izolasyonu amacıyla değerlendirildi. Örneklerin herbiri ayrı bir plastik torba içerisinde ve kısa sürede laboratuvara getirilerek hemen değerlendirildi.

**Standart suşlar :** Araştırmada kullanılan Mycoplasma ovipneumoniae ve M.arginini standart suşları Dr.J.G.TULLY'den (Mycoplasma Section, Frederick, Cancer, Res. Dev. Center, Frederick, USA)temin edildi.

**Besiyerleri :** Pnömonik akciğerlerden mikoplazmaların izolasyonu amacıyla PPLO Agar ve PPLO Broth (Difco), diğer bakterilerin izolasyonu için kanlı agar (%7 defibrine koyun kanlı, Blood Agar Base-Oxoid) Mac Conkey Agar (Oxoid) ve EMB Agar (Oxoid), Nutrient agar ve Broth (Oxoid) ile serumlu buyyon kullanıldı.

**Antibiyotik Diskleri :** Patolojik materyallerden izole edilen mikoplazma suşlarının antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesinde Enrofloxacin 5 mcg (Bayer), Danofloxacin 5 mcg (Difco), Ampicilline 10 mcg (Oxoid), Streptomycine 10 mcg, Oxytetracycline 30 mcg ve Erythromycine 15 mcg (Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü) disklerinden yararlanıldı.

**Antijen hazırlanması :** Çalışmada kullanılan standart suşlardan antijen hazırlanmasında Senterfit (34) in bildirdiği yöntem kullanıldı.

**Antiserum elde edilmesi :** Tavşanlardan antiserum elde edilmesinde Senterfit (34) in belirttiği metot kullanıldı. Tavşanlar Erzurum Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi.

**Antiserum disklerinin hazırlanması :** Disklerin hazırlanmasında Clyde (14) in bildirdiği yöntem kullanıldı. Tavşanlardan elde edilen immunserumlar 0.22 µm'lik milipor filtrelerle sterilize edilerek 6 mm çapındaki Whatman (No:40) filtre kağıdından hazırlanan disklere emdirilerek kurutuldu. Üreme inhibisyon testinde kullanılan bu diskler+4°C'de saklandı.

**Taze maya ekstraktının hazırlanması :** Yeast extract(Difco) 25 gr alınarak 100 ml distile suda çözdürüldü. Maya ekstraktı 0.2 µm'lik milipor filtrelerden geçirilerek sterilize edildikten sonra 10'ar ml olarak steril şişelere taksim edildi. En çok 4 ay süreyle kullanılmak üzere -20°C'de saklandı (25).

**Alt serumunun hazırlanması :** Elde edilen at serumu su banyosunda 56 °C'de 30 dakika tutularak inaktive edildi. İnaktive edilen serum 0.2 µm'lik milipor filtrelerden seçilerek sterilize edildikten sonra 20 ml'lik steril şişelere bölünerek -20°C'de saklandı (25).

**Talyum asetat solüsyonunun hazırlanması :** Bir gram thallium asetat 80 ml distile suyla kaynayan su içerisinde çözüldürülerek 2 ml'lik şişelere bölünüp 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilerek +4°C'de saklandı (25).

**Besiyerlerinin hazırlanması :** Mikoplazmaları üretmek amacıyla 1000 ml katıbesiyeri hazırlamak için 35 gr PPLO Agar (Difco) tartılarak 680 ml distile su içerisinde çözdürüldü. Süspansiyon homojen hale gelene kadar ısıtıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edildi. Daha sonra besiyerine

aseptik şartlarda steril at serumu 200 ml, steril taze maya ekstraktı 100 ml, penisilin G 500 IU/ml, talyum asetat (1/80) 20 ml miktarlarında ilave edilip pH 7.6-7.8'e ayarlanarak 9 cm çapında petri kutularına döküldü.

Mikoplazma sıva besiyeri hazırlamak amacıyla PPLO Broth (Difco) 2.1 gr 70 ml distile suda çözülürerek otoklavda 121°C'de 15 dakika süreyle steril edildi. Besiyerine aseptik şartlarda steril at serumu 20 ml, taze yeast extract 10 ml, penisilin G 500 IU /ml, thallium asetat (1/4000) 2 ml esaptik şartlarda katılarak pH 7.6-7.8'e ayarlanıp steril tüplere 5'er ml miktarında taksim edildi.

Mikoplazmalar dışındaki diğer bakterilerin izolasyonu amacıyla kullanılan katı ve sıvı besiyerleri bilinen rutin yöntemlerle hazırlandı (3,10)

**Ekim ve izolasyon çalışmaları :** Pnömonik akciğerlerden bir parça (1 gram) alınarak steril havanda, steril kum yardımıyla 5 ml sıvı besiyerinde (PPLO buyyon) iyice ezilerek süspansiyon hale getirildi. Hazırlanan bu süspansiyondan 0.1 ml alınarak PPLO katı ve sıvı besiyerine ve ayrıca kanlı agara ekimleri yapıldı. Ekim yapılan mikoplazma besiyerleri 2.5 litrelik jarlarda (Merck), nemli ve mikroaerofilik ortamda (Anaerocult C, Merck) 37°C'de 5 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda katı besiyerleri, stereo mikroskop altında koloni gelişimi, sıvı besiyerleri ise bulanıklık açısından incelendi. Saf kültür elde etmek amacıyla, üreme görülen katı besiyerlerinden, stereo mikroskop altında tek koloni alınarak PPLO katı ve sıvı besiyerine subkültürleri yapıldı. Üremelerde bakterilerin "L formu" şüphesini ortadan kaldırmak amacıyla üreyen kolonilerden inhibitörsüz katı besiyerine ve kanlı agara pasajları yapıldı. Üreme görülmeyen katı besiyerleri negatif kabul edilmeden önce 7 gün süreyle daha inkübe edildiler. Mikoplazmalar dışındaki bakterilerin izolasyonları amacıyla ekimi yapılan kanlı agarlar 37 C`de 24-48 saat süreyle aerobik ortamda inkübe edilerek değerlendirildiler.

**İdentifikasyon çalışmaları :** İzole edilen mikoplazma suşlarının identifikasyonu amacıyla dijitonine duyarlılık, glikoz fermentasyonu arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, hemoliz ve fosfataz testi ile üreme inhibisyon testinden yararlanıldı.

**Dijitonine duyarlılık :** Bu test, Tully (38) nin bildirdiği metoda göre yapıldı. Bu amaçla 30 mg dijitonin 2 ml %95'lik etil alkol içerisinde çözülürerek %1,5'lik dijitonin solüsyonu hazırlandı. Solüsyon, Whatman (No:40) filtre kağıdından hazırlanan 6mm çapındaki disklere her bir diske 0.025 ml dijitonin olacak şekilde emdirildi. 37°C'de kurutulan diskler+4°C'de saklandı. İzole edilen suşların 1/100 dülisyonlarından 0.1 ml katıbesiyeri yüzeyine bir baget yardımıyla yayılarak etüvde besiyerinin yüzeyi kurutulduktan sonra üzerine steril bir pens yardımıyla dijitonin diski hafifçe bastırılarak konuldu. Petriler, nemli ve %10 CO<sub>2</sub>'li

(Anaerocult C Merck) ortamda 37°C'de 5 gün süreyle inkübe edildikten sonra disk etrafında oluşan inhibisyon alanı ölçülerek değerlendirildi. Değerlendirmede disk etrafında oluşan 4 mm ve daha geniş inhibisyon alanı pozitif olarak kabul edildi.

**Glikoz fermentasyonu :** Bu test, Razin ve Cirillo (31) nun bildirildiği yöntemle yapıldı. Hazırlanan %10 glikoz solüsyonundan 5 ml'lik PPLO buyyonlara 0.5 ml ilave edilerek %1 glikoz içeren sıvı besiyerleri oluşturuldu. Hazırlanan besiyerine test edilecek kültürden 0.1 ml inoküle edilip, üzerine %0.002 oranında fenol red katılarak ekim yapılmayan bir kontrol tüpü ile birlikte 37°C'de, nemli ve %10 CO<sub>2</sub>'li (Anaerocult C, Merck) ortamda 5 gün süreyle inkübe edildi. Besiyerinin renginin besiyeri pH'sının 7'nin altına düşmesi nedeniyle kırmızıdan sarıya dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi.

**Arjinin hidrolizi :** Bu test Barile (7) nin bildirdiği yöntemle yapıldı. Bunun için %2'lik Arginin solüsyonundan 5 ml'lik PPLO buyyonlara 0.01 ml ilave edilerek %0.2 arginin içeren ve pH'sı 7 olan sıvı besiyeri hazırlandı. Test edilecek kültürden hazırlanan besiyerine 0.1 ml ekim yapıldıktan sonra %0.002 oranında fenol red ilave edilerek ekim yapılmayan bir kontrol tüpüyle birlikte 37°C de nemli ve %10 CO<sub>2</sub>'li ortamda 5 gün süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda ekim yapılan besiyerinin renginin pembe yada kırmızıya dönüşmesi kontrol tüpünde ise renk değişikliğinin olmaması pozitif olarak değerlendirildi.

**Tetrazolium redüksiyonu :** Steril 2,3,5-triphenyltetrazolium chlorid'in %0.02 oranında katılmasıyla hazırlanan PPLO buyyonlara, test edilecek kültürden 0,1 ml ekilerek ekim yapılmayan bir kontrol tüpü ile birlikte 37°C de 5 gün süreyle inkübe edildiler. Besiyerinin renginin pembe kırmızıya dönüşmesi pozitif olarak değerlendirildi (33).

**Film ve spot oluşumu :** PPLO buyyon ve agara ekimi yapılan suşların 37°C'de, nemli ve mikroaerofilik ortamda 7 gün süreyle inkübasyonu sonucu, buyyonun üst kısmında ince bir tabakanın (film), agarda ise siyah beneklerin (spot) oluşması pozitif olarak, oluşmaması ise negatif olarak değerlendirildi (40).

**Fosfataz testi :** Steril Phenolftalein dishospat'tan %0.1 oranında katılarak hazırlanan katı besiyerine izole edilen suşların ekimi yapılarak 37°C, nemli ve mikroaerofilik ortamda 5 gün inkübe edildi. Bu süre sonunda oluşan kolonilerin üzerine 5 N NaOH dökülerek yarım dakika içerisinde kırmızı rengin oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (12).

**Hemoliz testi :** İzole edilen suşların hemoliz yapma yeteneklerini belirlemek amacıyla, %7 koyun kanlı PPLO agara ekimleri yapılarak, besiyeri nemli ve mikroaerofilik ortamda 5 gün süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda besiyerinde hemoliz oluşup olmadığı gözlemlendi (3).



**Üreme inhibisyon testi :** Bu test, Clyde (14) ın bildiği yöntemle yapıldı. Bu amaçla test edilecek kültürün 10 dilüsyonundan 0.1 ml alınarak PPLO katı besiyerine bir baget yardımıyla silme ekimi yapıldı. Besiyeri 37°C’de 20 dakika kurutulduktan sonra üzerine standart antijenden hazırlanan immün serum diskleri konuldu. Besiyerleri 37°C’de, nemli ve mikroaerofilik ortamda 5 gün süreyle inkübe edildikten sonra disk etrafında oluşan 2 mm ve daha fazla olan inhibisyon alanı pozitif olarak değerlendirildi.

**Antibiyotik duyarlılık testi :** Patolojik materyallerden izole ve tanımlanmış mikoplazma suşlarının antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla PPLO agarda Kirby-Baure (8) disk difüzyon yöntemi kullanıldı.

**Diğer bakterilerin identifikasyonu :** Patolojik materyallerden mikoplazmalar dışında izole edilen diğer bakterilerin identifikasyonları, koloni morfolojisi, mikroskopik görünüm, karbonhidrat fermentasyon testleri, hareket muayenesi, hemoliz, oksidaz, katalaz, koagülaz testi gibi rutin yöntemlerle yapıldı (3,10).

## BULGULAR

### Mikoplazmaların İzolasyon ve İdentifikasyonu

Kars Belediye Mezbahası’nda kesilen, 1354 koyuna ait akciğerlerin makroskopik olarak incelenmesi sonucu pnömonik bulunan (verminöz pnömoni hariç) 120 adet pnömonik koyun akciğerinin 19’undan (%15.83), Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’na teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonik koyun akciğerinin 42’sinden (%33) olmak üzere, toplam 247pnömonik koyun akciğerinden 61 (%24.69) mikoplazma suşu izole edildi (tablo-1). İzole edilen 61 mikoplazma suşunun, biyokimyasal testler ve üreme inhibisyon testiyle yapılan identifikasyonlarında, 43’ünün (%70.5) M.arginini, 18’inin (%29.5) M.ovipneumoniae olduğu saptandı. Kars Belediye mezbahası’ndan temin edilen 30 sağlıklı koyun akciğerinden mikoplazma suşu izole edilemedi.

Kars Belediyesi Mezbahası’ndan alınan 120 adet pnömonik koyun akciğerinden izole edilen 19 (%15.83) mikoplazma suşu koloni morfolojisi, glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, fosfataz, hemoliz testi gibi biyokimyasal testler ve üreme inhibisyon testleri ile 13’ü (%68.42) M.arginini, 6’sı (%31.57) M.ovipneumoniae olarak tanımlandı. Laboratuvara teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonik koyun akciğerinden izole edilen 42 mikoplazma suşunun yukarıda bildirilen testler yardımıyla yapılan identifikasyon çalışmalarında 30’u (%71.42) M.arginini, 12’si ise (%28.57) M.ovipneumoniae olarak tanımlandı.

Kars Belediye Mezbahası’ndan elde edilen 120 pnömonik koyun akciğerinin 11’inden (%9.16) mikoplazmalar tek başına izole edilirken 8’inden (%6.66) diğer

bakterilerle birlikte izole edildi. Laboratuvara teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonik koyun akciğerinin 24'ünden (%18.89) mikoplazma tek başına izole edilirken, 18'inden (%14.17) ise diğer bakterilerle birlikte izole edildi (Tablo-1). Ayrıca pnömonili 3 koyun akciğerinde M.ovipneumoniae ve M.arginini birlikte bulundu.

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan akciğer örneklerinin kaynağı, sayısı ile izole edilen etken sayıları ve izolasyon oranı.

	Pnömonik akciğer örnek sayısı	Mikoplazma izole edilen örnek sayısı	Bakteri izole edilen örnek sayısı	Miks infeksiyon sayısı	Etken izole edilemeyen örnek sayısı
Kars Belediye Mezbahası	120	11 (%9.16)	15 (%12.5)	8 (%6.66)	86 (%71.66)
KAÜ. Vet. FakM İkiyoloji ABD.	127	24 (%18.89)	30 (%23.62)	18 (%14.17)	55 (%43.3)
Toplam	247	35 (%14.17)	45 (18.21)	26 (%10.52)	141 (%57)

**Koloni Morfolojisi :** İzole edilen mikoplazma suşlarının PPLO agarda oluşturdukları kolonilerin stereo mikroskop altında X40 büyütme ile yapılan incelemeleri sonucu, kolonilerin merkezli, kenarları düzgün “fried egg” diye tanımlanan sahadan yumurta tarzında ve merkezli, granüller, kenarları düzensiz bir şekilde olmak üzere iki farklı tipte olduğu görüldü. Yapılan identifikasyon çalışmaları sonucunda tipik, merkezli görünümlü kolonilerin M.arginini, merkezli, granüler tipteki kolonilerin ise M.ovipneumoniae olduğu belirlendi.

#### **Biyokimyasal test sonuçları**

**Dijitonine duyarlılık testi :** Pnömonik akciğerlerden izole edilen mikoplazma suşları ile yapılan dijitonine duyarlılık testinde tüm mikoplazma suşlarının pozitif olduğu, dijitonin diski etrafında meydana gelen üreme inhibisyon zonunun 4-7 mm arasında değiştiği saptandı.

**Glikoz fermentasyonu :** İzole edilen mikoplazma suşları ile PPLO buyyonda yapılan glikoz fermentasyonu testinde, M.ovipneumoniae suşlarının pozitif, M.arginini suşlarının ise negatif olduğu belirlenmiştir.

**Arjinin hidrolizi :** Pnömonik akciğerlerden izole edilen mikoplazma suşlarının PPLO buyyonda yapılan arjinin hidrolizi testinde, M.arginini suşlarının pozitif reaksiyon verdiği, M.ovipneumoniae suşlarının ise negatif olduğu görüldü.

**Tetrazolium redüksiyonu :** İzole edilen mikoplazma suşlarının PPLO buyyonda yapılan tetrazolium redüksiyonu testi sonuçlarına göre M.ovipneumoniae suşları pozitif M.arginini suşları negatif olarak değerlendirildi.

**Film ve spot oluşumu** : Değerlendirilen tüm mikoplazma suşlarının PPLO buyyon ve agarda film ve spot oluşumu negatif olarak gözlemlendi.

**Fosfataz testi** : İzole edilen mikoplazma suşlarının PPLO agarda yapılan fosfataz testi yoklamalarında tüm suşların negatif olduğu belirlendi.

**Hemoliz Testi** : İzole edilen mikoplazma suşlarının %7 koyun kanlı PPLO agarda yapılan hemoliz testinde, M.ovipneumoniae suşlarının hemoliz oluşturduğu, M.arginini suşlarının ise hemoliz yapmadığı saptandı.

**Üreme inhibisyon testi** : İzole edilen M.arginini ve M.ovipneumoniae suşlarının PPLO agarda yapılan üreme inhibisyon testinde, standart antijenlere karşı tavşanlarda elde edilen hiperimmün serumlarla inhibe oldukları saptandı. Disk etkrafında meydana gelen üreme inhibisyon zonunun 2-6 mm arasında değiştiği belirlendi.

İzole edilen mikoplazma suşlarının belirlenen biyokimyasal özellikleri Tablo-2`de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Çalışmada izole edilen mikoplazma suşlarının biyokimyasal test sonuçları.

	G	A	T	F/S	F	H
M.arginini	-	+	-	-	-	-
M.ovipneumoniae	+	-	+	-	-	+

G : Glikoz fermentasyonu      T : Tetrozolium redüksiyonu      F : Fosfataz reaksiyonu  
A : Arjimin hidrolizi      F/S : Film ve Spot oluşumu      H : Hemoliz testi

**Antibiyotik duyarlılık testi** : Pnömonik akciğerlerden izole edilen 43 M.arginini suşunun Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile yapılan antibiyotik duyarlılık testinde, 42`sinin (%97.66) enrofloksasine, 40`ının (%93.02) danofloksasine, 40`ının (%93.02) oksitetrasikline, 39`unun (%90.69) ampisiline, 7`sinin (%16.27) eritromisine duyarlı, tüm suşların streptomisine dirençli olduğu saptandı. Pnömonik akciğerlerden izole edilen 18 M.ovipneumoniae suşunun ise 18`i (%100) enrofloksasine, 17`sinin (%94.44) oksitetrasikline, 16`sı (%88.88) danofloksasine, 16`sı (%88.88) ampisiline, 2`si (%11.11) eritromisine duyarlı, tüm suşlar streptomisine dirençli bulundu (Tablo-3).

**Tablo 3.** İzole edilen M.arginini ve M.ovipneumoniae suşlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.

	A		Dn		E		Er		O		S	
	D	R %D	D	R %D	D	R %D	D	R %D	D	R %D	D	R %D
M.arginini (43)*	39	4 90.69	40	3 93.02	42	1 97.67	7	36 16.27	40	3 93.02	0	43 0
M.ovipneumoniae(18)*	16	2 88.88	16	2 88.88	18	0 100	2	16 11.11	17	1 94.44	0	18 0

\* : Suş sayısı      D : Duyarlı suş sayısı      R : Rezistans suş sayısı      Er : Eritromisin  
A : Ampisilin      Dn : Danofloksasin      E : Enrofloksasin  
O : Oksitetrasiklin      S : Streptomisin      %D : Duyarlılık oranı

### **Diğer bakterilerin izolasyon ve identifikasyon sonuçları**

Kars Belediye Mezbahası'ndan elde edilen 120 adet pnömonili koyun akciğerinin 23'ünden (%19.16), laboratuvara teşhis amacıyla getirilen 127 adet pnömonik koyun akciğerinin ise 48'inden (%37.79) başta P.haemolytica olmak üzere Staphylococcus spp., Streptococcus spp., B.anthraxis, E.coli gibi bakteriler izole edildi. Mikoplazma dışında diğer bakterilerin izolasyonuna ilişkin yapılan çalışmalarda Kars Belediye Mezbahası'ndan elde edilen 120 pnömonik koyun akciğerinin 23'ünden (%19.16) izole edilen toplam 27 bakteri suşunun koloni morfolojisi, mikroskopik görünüm, karbonhidrat fermentasyon testleri, hareket, hemoliz, oksidaz, katalaz testi gibi rutin yöntemlerle 17'si (%62.96) P.haemolytica, 5'i (%18.51) Staphylococcus spp., 3'ü (%11.11) Streptococcus spp., 2'si (%7.4) E.coli olarak tanımlanmıştır. Laboratuvara teşhis amacıyla getirilen 127 pnömonik koyun akciğerinin 48'inden izole edilen toplam 54 bakteri suşunun, yukarıda belirtilen yöntemlerle 39'u (%72.22) P.haemolytica, 6'sı (%11.11) Staphylococcus spp., 4'ü (%7.4) B.anthraxis, 3'ü (%5.55) E.coli, 2'si (%1.08) Streptococcus spp., olarak tanımlanmıştır.

### **TARTIŞMA VE SONUÇ**

Bu çalışmada pnömonik koyun akciğerlerinden mikoplazma ve diğer bakterilerin izolasyonu gerçekleştirilmiş, izole edilen mikoplazmaların identifikasyonları ile bazı antibiyotiklere olan duyarlılıkları belirlenmiştir.

Koyun pnömonilerinin etiyojilerine yönelik olarak gerek yurdumuzda (1,17,20,23) gerekse diğer ülkelerde (5,21,26,27) yapılan birçok araştırmada pnömonik koyun akciğerlerinden mikoplazmaların tek başına (2,28) ya da diğer bakteriler ile birlikte (5, 13, 18,26,36) izole edildikleri bildirilmektedir. Pasic (27) Yugoslavya'da yaptığı bir araştırma 77 pnömonili koyun akciğerinin 51'inden (%66.2) mikoplazma izole etmiş, izole edilen suşların 35'inin (%69) M.ovipneumoniae, 14'ünün (%27) M.arginini ve 2'sinin (%4) A.laidlawii olduğunu bildirmiştir. Tabatabayi ve ark. (36) subakut ve kronik pnömonili 62 koyun akciğerinin 49'undan (%79), sağlıklı koyun akciğerlerden ise %6.5 oranında M.arginini izole ettiklerini, ayrıca pnömonik akciğerlerden P.multocida, P.haemolytica, Streptococcus spp., Corynebacterium spp. gibi bakterilerin de izole edildiğini açıklamışlardır. Popovic ve ark. (28), pnömonik 32kuzu akciğerinin 26'sından (%81), pnömonik 45 koyun akciğerinin ise 25'inden (%56) mikoplazma suşu izole etmişlerdir. Bakke ve ark. (5) subakut ve kronik pnömonili koyunlara ait 126 akciğerden 109 (%87), sağlıklı 83 akciğerden ise 5 (%6) M.ovipneumoniae suşu izole ettiklerini, P. haemolytica'nın daha düşük oranda

ve genellikle *M.ovipneumonae* ile birlikte izole edildiğini, Gharogzou ve ark. (18) 88 pnömonik koyun akciğerinin 56'sından (%63.63) *M.arginini* izole ettiklerini ve bunların 34'ünün *P.haemolytica* gibi diğer bakterilerle birlikte bulunduğunu bildirmişlerdir. Aksoy (1) 118 pnömonik koyun akciğerinin 26'sından (%22.03) mikoplazma suşu izole edildiğini, izole edilen suşların 20'sinin *M.arginini* olarak tanımlanmış olduğunu, mikoplazma suşlarının %21.4 oranında diğer bakteriler, %9,8 oranında viruslar, %6.25 oranında ise parazitlerle birlikte izole edildiğini belirtmiştir. Türkarlan (40) 83 pnömonik koyun ve kuzu akciğerinin 17'sinden (%20.48) *M.ovipneumoniae* izole etmiştir. Güler (20) 145 kuzu, 59 koyun, 6 oğlak ve 5 keçi akciğeri olmak üzere 215 pnömonik akciğer materyalinden 91 (%62.75) mikoplazma suşu izole etmiş, izole edilen suşların koloni morfolojileri, biyokimyasal testler ve üreme inhibisyon testi ile 66'sının (%72.5) *M.arginini*, 23'ünün (%25.3) *M.ovipneumoniae*, 1'inin (%1.09) *M.mycoides subs.capri* ve 1'inin (%1.09) *M.agalactiae* olduğunu belirlemiştir. Araştırmacı 59 pnömonik koyun akciğerinin 12'sinden (%20.33) mikoplazma suşu ayrıldığını, bu suşların 10'unun (%83.33) *M.arginini*, 1'inin (%8.33) *M.ovipneumoniae*, 1'inin (8.33) *M.agalactiae* olarak tanımlanmış olduğunu, tüm materyallerden izole edilen 23 *M.ovipneumoniae* suşunun 7'sinin (%30.43), 66 *M.arginini* suşunun da 23'ünün (%34.84) tek başına, geri kalanının ise *P.haemolytica* ve/veya diğer etkenlerle birlikte bulunduğunu bildirmiştir.

Yapılan bu çalışmada, toplam 247 adet pnömonik koyun akciğerinin 61'inden (%24.69) mikoplazma suşu izole edildi. Elde edilen bu izolasyon oranı, yurdumuzda yapılan çalışmalarla (1,20,40) uyum göstermekte iken, diğer ülkelerde yapılan araştırmalarda (18,27,28) pnömonik koyun akciğerlerinden daha yüksek oranda mikoplazma izole edilmesi atipik pnömoninin o ülke şartlarında daha yaygın olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada pnömonik akciğerlerden izole edilen 61 mikoplazma suşunun koloni morfolojisi, glikoz fermentasyonu, arjinin hidrolizi, tetrazolium redüksiyonu, film ve spot oluşumu, fosfataz, hemoliz, ve üreme inhibisyon testi ile 43'ü (%70.5) *M.arginini*, 18'i (%29.5) *M.ovipneumoniae* olarak tanımlanmış edildi. Pnömonik koyun akciğerlerinden izole edilen 61 mikoplazma suşunun 35'i (%57.37) tek başına, 26'sı (%42.62) diğer bakterilerle birlikte bulundu. Mikoplazma dışındaki diğer bakterilerin izolasyonu amsacıyla yapılan çalışmalar sonucu, 247 pnömonik koyun akciğerinin 71'inden (%28.74) toplam 81 bakteri suşu izole edildi. İzole edilen 81 bakteri suşu koloni morfolojisi, mikroskopik görünüm, karbonhidrat fermentasyon testleri, hareket, hemoliz, oksidaz, katalaz testi gibi rutin yöntemlerle 56'sı (%69.13) *P.haemolytica*, 11'i (%13.58) *Staphylococcus spp.*, 5'i (%6.17) *Streptococcus spp.*, 5'i (6.17) *E.coli*, 4'ü

(%4.93) B.anthraxis olarak identifiye edildi. Çalışmada değerlendirilen 247 pnömonik koyun akciğerinin 141 (%57) inden bakteriyel etken tespit edilememiştir. Bu nedenle pnömoni olgularının etiolojisinin araştırılmasında bakteriyolojik incelemelerin yanısıra virolojik, mikolojik ve parazitolojik yoklamaların birlikte yürütülmesi daha yararlı olacaktır.

Mikoplazma suşlarının in vitro olarak antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla birçok araştırma (15,20,22,23) yapılmıştır. Quinlan ve ark. (29) 40 M.ovipneumoniae suşu ile sıvı ortamda yaptıkları antibiyotik duyarlılık testinde sırayla tylosin, oksitetrasiklin, novobiocin ve kloramfenikole duyarlı olduğunu, Jones ve ark. (22) ise 9 M.ovipneumoniae suşu ile yaptıkları antibiyogram sonucunda, suşların klortetrasiklin, oksitetrasiklin, tylosin, kanamisin ve gentamisine duyarlı, streptomisin, polimiksin B ve nistatine dirençli bulunduğunu, Güler (20) pnömonili koyun ve kuzu akciğerlerinden izole edilen 10 M.ovipneumoniae ve 20 M.argini suşuyla yapılan antibiyotik duyarlılık testinde, M.ovipneumoniae suşlarının eritromisin ve streptomisine dirençli oksitetrasiklin, klortetrasiklin gentamisin, tylosin, spiramisin, enrofloksasin ve linkospektine duyarlı, M.argini suşlarının ise tümünün streptomisine dirençli, 15`inin eritromisine, 9`unun klortetrasikline, 6`sının gentamisine 1`inin oksitetrasikline dirençli, tüm suşların tylosin, spiramisin, enrofloksasin ve linkospektine duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Cooper ve ark. (15) veteriner hekimlik alanında önemli mikoplazma türlerinin in vitro olarak danofloksasin, tylosin ve oksitetrasikline olan duyarlılıklarını belirledikleri bir çalışmada danofloksasinin diğerlerine oranla daha duyarlılıklarını belirledikten bir çalışmada danofloksasinin diğerlerine oranla daha etkili olduğunu saptanmışlardır.

Bu çalışmada izole edilen 43 M.argini ve 18 M.ovipneumoniae suşunun Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile PPLO agarda yapılan antibiyotik duyarlılık testinde, M.argini suşlarının 42'si (%97.67) enrofloksasine, 40`ı (93.02) danofloksasine, 40`ı (%93.02) oksitetrasikline 39`u (%90.69) ampisiline, 7`si (%16.27) eritromisine duyarlı, antibiyogram testine tabi tutulan tüm suşların ise streptomisine dirençli olduğu saptandı. M. ovipneumoniae suşlarının ise 18`i (%100) enrofloksasine, 17` si (%94.44) oksitetrasikline, 16`sı (%88.88) danofloksasine, 16`sı (%88.88) ampisiline, 2`si (%11.11) eritromisine duyarlı bulunurken tüm suşların streptomisine dirençli olduğu saptandı. Testte kullanılan antibiyotik çeşitleri gözönüne alındığında, sonuçlar Jones ve ark. (22), Güler (20) ve Cooper ve ark. (15) nın bildirdikleri sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak; pnömonik koyun akciğerlerinden tek başına ya da diğer etkenlerle birlikte yüksek oranda izole edilen mikoplazmaların, koyun pnömonilerinin oluşumunda primer etiolojik etken olabileceği düşünülmektedir.

Konuyla ilgili bakteriyolojik çalışmaların yanısıra virolojik, serolojik, parazitolojik ve histo-patolojik yoklamaların birlikte yürütüleceği araştırmaların yapılması yararlı olacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. **AKSOY, E.** (1993) : Etlık Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü'ne gelen koyun materyallerinde mikoplazmal enzootik pnymoni olayları ve patolojik bulgular Etlık Vet. Mikrobiyol. Derg. 7(4) : 172-197

2. **AL-AUBAIDI, JM., TAYLOR, W. D., BUBASH, G. R. and DARDIRI, A. H.** (1972) : Identification and Characterization of Mycoplasma arginini from Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*) and Goats. Am. J. Vet. Res., Vol.33, No 1., pp.87-90

3. **ARDA, M.** (1985) : Genel Bakteriyoloji A..Vet.Fak. Yay. No: 402. Ankara

4. **ARISOY, F., ETHERIDGE, J. R. and FOGGIE, A.** (1969) : Türkiye' de koyun ve keçilerden izole edilmiř olan 15 Mycoplasma suşunun remesine in vitro oxytetracine, erythromycin ve tylosinin tesiri. Pendik Vet. Knt. Arař. Enst. Derg. Cilt.II, Sayı I, pp. 137-149.

5. **BAKKE, T.** (1982) : The occurrence of Mycoplasma and Bacteria in Lungs from Sheep in Southern Norway. Acta Vet. Scand., 23,235-247

6. **BAKKE, T. and NOSTVOLD, S.** (1982) : An Investigation of Ovine Pneumoniae in Four Herds from Central Norway. I. Prevalance of Pneumoniae and Microbiological Findings Acta. Vet. Scan. 23: 2,248-258.

7. **BARILE, M. F.** (1983) : Arginin Hydrolysis. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.1., Ed.S.RAZIN and J.G. TULLY, Academic press, New York, pp 345-349

8. **BAUER, A. W., KIRBY, W. M. M., SHERRIS, J. C. and TRUCK M.** (1966) : Antibiotic Suspectibility Testing by a Standardized Single Disc Method. J. Clin. Pathol. 45.493-494

9. **BAYSAL, T ve GÜLER, L.** (1992) : Konya yresindeki Kuzu ve Oęlakların Enzootik Pnmonilerinden Bakteriyel etken izolasyonu. Veterinarium, 3 (1) 1-5.

10. **BİLGEHAN, H.**(1992) : Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, Faklteler Kitabevi., İZMİR

11. **BLOOD, D. C., RADOSTITS, O. M., ARUNDEL, J. H. and GAY, C.** (1989) : Veterinary Medicine. A. Textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 7th Ed. Bailliere, Tindall.

12. **BRADBURY, J. M.** (1983) : Phosphatase Activity. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.1., Ed .S. RAZIN and J.G.TULLY, Academic press, New York, pp. 363-366

13. **CHATURVEDI, V. K., PATHAK, R. C., SINGH, P. P and PAL, B. C.**(1991) : Isolation and Characterization of Mycoplasmas from Respiratory tract of Sheep. Indian Vet.J. 68.808-811.

14. **CLYDE, W. A.** (1983) : Growth Inhibition Tests. In : Methods in Mycoplasmaology Vol.1., Ed.S. RAZIN ve J.G.TULLY, Academic press, New York, pp. 405-410

15. **COOPER, A. C., FULLER, J. R., FULLER A. K., WHITTLESTONE, P. and WISE, D. R.** (1993) : In vitro Activity of danofloxacin, tylosin and oxytetracycline against Mycoplasmas of veterinary Importance. Res. Vet. Sci. 54,329-334

16. **DURUSAN, R. ve DOĞUER, M.** (1955) : Türkiye’de kuzuların akciğerlerinden izole edilen plöropnömonia grubuna dahil organizmler. Türk Vet. Hek. Derg., 25 (104) : 2217-2230

17. **ERDAĞ, O.** (1972) : Kuzu Pneumonisinde Mycoplasma Organizmlerinin önemi. Pendik Vet. Kont. Araşt. Enst. Derg., V (2) 15-20

18. **GHAROGOZLOU, K. J., TABATABAYI, A. H. and FORCI, M.** (1992) : Pathology of ovine subacute to chronic pneumonia associated with Mycoplasma arginini in Iran Studies Res. Vet. med. 1 (1) 25-31.

19. **GREIG, A. S.** (1955) : Canad. J. comp. Med. and Vet. Sci. 19,265. In: CHATURVEDI, V.K., PATHAK, R.C., SINGH, P.P and PAL, B.C.(1991) : Isolation and characterization of Mycoplasmas from Respiratory Tract of Sheep. Indian Vet.J., 68, pp. 808-811.

20. **GÜLER, L.** (1994) : Pnömonili koyun ve keçilerden Mikoplazmaların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi Doktora tezi S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Konya.

21. **JONES, G. E. and GILMOUR, J. S.** (1983) : Atypical pneumoniae. In : Diseases of sheep. Ed. W.B.MARTIN, 17-23 Blackwell Scientific Publications. London.

22. **JONES, G. E., FOGGIE, A., MOULD, D. L. and LIVITT S.** (1976): J.Med. Microbiol. 9,39-52 In :Caprine-Ovine Mycoplasmas. COTTEW, G.S. In; The Mycoplasmas Vol II. Human and Animal Mycoplasmas. Ed.J.G. TULLY and R.F. WHITCOMB. Academic Press. New York. 1979. pp 103-132.

23. **KAYA, O., ERGANİŞ, O. ve BOYNUKARA, B.** (1993) : Koyun, Kuzu ve Buzağı Pnömonilerinde Bakteriyel Etiyoloji ve Antibiyogram Türk Vet. Hek. Derg., 5,2 :57-61.



**24. KIMBERLING, C. V.** (1988) : Jensen and Swift's Diseases of Sheep. Lea-Febiger, Philadelphia, USA.

**25. LAAK, A. and RUHNKE, H. L.** (1995) : Mycoplasma Infections of Cattle. In: molecular and Diagnostic Procedures in Mycoplasmaology Vol. 2, Academic Press. pp. 255-264

**26. MALONE, F. E., McCULLOGH, S. J., McLOUGHLIN, H. J. B. and O'HAGAN, S. D. N.** (1988) : Infectious Agents in Respiratory Disease of Housed, Fattening Lambs in Northern Ireland., Vet. Rec., 122: 203-207

**27. PASIC, S. and POPOVIC. M.** (1990) : Study of Ovine Mycoplasmas in Bosnia and Hercegovina. 2. Enrichment Medium for Isolation of Ovine Mycoplasmas Vet. Sarajevo., 38: 3-4, 307-311

**28. POPOVIC, M. and PASIC, S.** (1986) : Study of Ovine Mycoplasmas in Bosnia and Hercegovina. 1. Results of Isolation from Pneumonic Lungs of Sheep. Veterinaria., Yugoslavia., 35 : 4 pp. 493-496.

**29. QUINLAN, J. R., ALLEY, M. R. and CLARKE, J. K.** (1975) : N.Z. Vet. J. 23, 188-189. In : Caprine-Ovine Mycoplasmas. COTTEW, G.S. In: The Mycoplasmas. Vol. II. Human and Animal Mycoplasmas. Ed. J. G.TULLY and R.F. WHITCOMB. Academic Press. New York. 1979. pp 103-132.

**30. RAZIN, S.** (1983) : Urea Hydrolysis In: Methods in Mycoplasmaology. Vol. I.,Ed. S. RAZIN and J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 351-353.

**31. RAZIN, S. and CIRILLO, V. P.** (1983) : Sugar Fermentation. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol. I., Ed. S.RAZIN AND J.G. TULLY, Academic press, New York, pp. 337-345

**32. ROSENDAL, S.** (1986) : Mycoplasma. In: GYLES, C.L. and THOEN, C.O. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals Iowa State University Press, Ames pp. 205-215

**33. SENTERFIT, L. B.** (1983) : Tetrazolium Reduction In: Methods in Mycoplasmaology Vol. I., Ed.S. RAZIN and J.G. TULLY, Academic press, New York,pp 377-378

**34. SENTERFIT, L. B.** (1983) : Preparation of Antigens and Antisera In: Methods in Mycoplasmaology Vol. I., Ed. S.RAZIN and J.G. TULLY, Academic press, New York,pp. 401-404

**35. STAMP, J. T. and NISBET, D. I.** (1963) : Pneumonia of Sheep J. comp. Path. Vol. 73. 319-328

**36. TABATABAYI, A. H., GHORAGOZLOU, M. J. and GHADER-SOHI, A. (1992) :** A Survey of Mycoplasma arginini and Agents from Subacute and Chronic Ovine Pneumoniae in Iran. Preventive Vet. Med. 12 :153-158

**37. THE MERCK VETERINARY MANUAL (1991) :** Nonprogressiv Pneumoniae. 7 th Ed. pp. 755-756. Merck and co., Inc. Rahway, N.J.USA

**38. TULLY, G. J. (1983) :** Tests for Digitonin Sensitivity and Sterol Requirement. In : Methods in Mycoplasmaology. Vol.1.,Ed. S.RAZIN and J.G.TULLY, Academic press, New York, pp, 355-362

**39. TÜRKAŞLAN, J. (1984) :** Sığır Mycoplasmaları. Pendik Vet. Mikrobiyol Derg., XVI (1-2) 71-80

**40. TÜRKAŞLAN, J. (1992) :** Değişik hayvan orjinli materyallerden izole edilen Mikoplazmaların identifikasyonu üzerine araştırmalar. Uzmanlık tezi. Pendik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü. İSTANBUL

**41. YILMAZ, K. ve ÖZDEMİR, H. (1994) :** Evcil hayvanlarda solunum sistemi hastalıkları (pnömoni) Bültendif 3: 7-11.