



Açlık Stresine Maruz Kalan *Corynebacterium pseudotuberculosis*'ın SDS-PAGE İle Proteinlerinin Analizi

Müzeyyen DEMİR^{1,a,*}, Sevil ERDENLİĞ GÜRBİLEK^{1,b}

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

^aORCID: 0000-0002-7082-4473

^bORCID: 0000-0002-0377-2650

Geliş Tarihi: 03.11.2023

Kabul Tarihi: 12.12.2023

Bu makale Nasıl kaynak gösterilir: Demir M, Erdenliğ Gürbilek S. (2023). Açlık Stresine Maruz Kalan *Corynebacterium pseudotuberculosis*'ın SDS-PAGE İle Proteinlerinin Analizi. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 12(2): 223-227. DOI:10.31196/huvfd.1385664.

***Yazışma adresi:** Müzeyyen DEMİR

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

e-mail: vetmzyndmr@gmail.com

Online erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/huvfd>

Abstract: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, hücre içi bir patojen olup küçük ruminantlarda kazeöz lenfadenit (KLA) hastalığına sebep olan, Gram-pozitif fakültatif bir bakteridir. Ayrıca *C. pseudotuberculosis*, insanlarda ve hayvanlarda hastalık oluşturan bir bakteri türüdür. Bu bakteri, açlık stresine maruz kaldığında, hücresel yapısını ve metabolizmasını değiştirerek adaptasyon gösterir. Bu değişiklikler, bakterinin protein ekspresyonunda da değişikliklere neden olabilir.

Bu çalışmada, *C. pseudotuberculosis*'ın açlık stresine maruz bırakıldığında ve genel besiyerlerinde üretildiğinde protein profillerinde meydana gelen farklılıkların araştırılması amaçlanmıştır. Daha önce izole edilmiş olan bir saha suşu ve referans olarak kullanılan *C. pseudotuberculosis* suşu Tryptic Soy Broth ve RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) besiyerlerinde üretildikten sonra tüm proteinleri SDS PAGE ile karşılaştırılarak incelendi.

Sonuç olarak, açlık stresse maruz bırakılan ve bırakılmayan *C. pseudotuberculosis* suşları arasında protein yapıları arasında profil farklılıkları olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, RPMI, SDS-PAGE, Stres.

Analysis of Proteins of *Corynebacterium pseudotuberculosis* Exposed to Starvation Stress by SDS-PAGE

Abstract: *Corynebacterium pseudotuberculosis* is a Gram-positive facultative bacterium that is an intracellular pathogen causing caseous lymphadenitis (CLA) in small ruminants. In addition, *C. pseudotuberculosis* is a bacterial species that causes disease in humans and animals. When exposed to starvation stress, this bacterium adapts by changing its cellular structure and metabolism. These changes may also result in alterations in the protein expression of the bacterium.

In this study, we aimed to investigate the differences in protein profiles of *C. pseudotuberculosis* when exposed to starvation stress and when grown on general media. A previously isolated field strain and a reference strain of *C. pseudotuberculosis* were grown in Tryptic Soy Broth and RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute), and all proteins were analyzed by SDS PAGE.

As a result, it was determined that there were profile differences in protein structures between *C. pseudotuberculosis* strains exposed and not exposed to starvation stress.

Keywords: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, RPMI, SDS-PAGE, Stress.

Giriş

C. pseudotuberculosis, Gram pozitif bir bakteri olup, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz, kokoid veya çomak morfolojisinde, fakültatif hücre içi bakteridir. Etken, aerobik veya fakültatif anaerobik ortamlarda, katı besi yerlerinde 37 °C'de 48-96 saatte küçük, smooth tarzda yuvarlak, sarımsı veya grimsi-beyazımsı koloniler meydana getirmektedir. Proteolitik etkisi bulunmayıp, biyokimyasal aktivitesi zayıftır ve değişkenlik göstermektedir. Etken, daha çok koyun ve keçilerde kazeöz lenfadenitis (KLA)'in spesifik etkenidir. KLA, özellikle eksternal lenf yumruları (eksternal form) ve akciğerler başta olmak üzere birden fazla iç organda kapsüllü apseler meydana getiren (internal form) kronik bir enfeksiyon meydana getirir. Dünyanın birçok yerinde yaygın olarak görülen bu hastalıkta apse oluşumuyla beraber erken doğum, abortlar, deri ve yapağı kalitesinde bozulma, çok şiddetli zayıflamaya bağlı olarak et verimi ve kalitesinde düşme, özellikle genç hayvanlarda aşırı olmak üzere nadiren de olsa ölümler gözlenebilmektedir (Dorella ve ark., 2006; İlhan, 2001; Middleton ve ark., 1991; Parin ve ark., 2018).

Küçük ruminantlarda, *C. pseudotuberculosis* patogenezi katkısında bulunan virülans faktörleri ile ilgili olarak, 31.4 kDa'luk fosfolipaz D (PLD) bu bakterinin başlıca virülans faktörü olarak tanımlanmaktadır. PiCp1 operonundaki genler (*fagA*, *fagB*, *fagC*, *fagD*) tarafından oluşturulan virülans faktörlerinin açlık stresinde bakterinin eksprese ettiği genlerden bazılarıdır (Billington ve ark., 2002). Bu virülans faktörleri, *C. pseudotuberculosis*'in farelerde hastalık oluşturma yeteneği için gereklidir. FagA (37,5 kilo dalton), demir edinimi için gerekli olan bir heme-bağlayıcı proteindir. FagB (20 kDa), hücre duvarı stabilitesini sağlayan bir proteindir. FagC (25 kDa), fagositozdan kaçınma için gerekli olan bir proteindir. FagD (22 kDa), hücre içi hayatta kalma için gerekli olan bir proteindir. Ayrıca, bir ATP bağlayıcı sitoplazmik membran proteini (37,5 kDa) ve bir demir bağlayıcı siderofor CiuA (50 kDa) (Ribeiro ve ark., 2014) proteini bulunmaktadır.

Açlık stresinde protein düzeylerindeki değişikliklerden biri ATP bağlayıcı sitoplazmik membran proteini düzeyleri artmasıdır. Bu protein, bakterinin enerji üretimi için gereklidir. Açlık stresi altında, bakteri enerji tasarrufu sağlamak için ATP üretimlerini artırmaya çalışır. Bu, ATP bağlayıcı sitoplazmik membran proteini düzeylerinin artmasına neden olur ve demir bağlayıcı siderofor protein düzeyleri artar. Açlık stresi altında, bakteri demir eksikliği stresine maruz kaldığından bu da bakterinin demir alımını arttırmasına neden olur. Bu nedenle, demiri bağlayıcı siderofor proteini düzeyleri artar. Sonuçta bu değişikliklerin, bakterinin enerji üretimini arttırmasına, demir alımını arttırmasına ve fagositozdan kaçmasına yardımcı olduğuna inanılmaktadır (Lee ve ark., 2017).

C. pseudotuberculosis'in tüm izolatlarında bulunan ve SDS'de çözünen proteinlerin dört gruba ayrılabilmesini ve bunların; (i) 119 kDa'dan büyük olan yüksek moleküler kütleli proteinler, (ii) 84, 64 ve 58 kDa moleküler kütleli üç protein seti, (iii) 33 ile 30 kDa moleküler kütleli proteinlerden oluşan bir çift ve (iv) 25 ile 20 kDa düşük moleküler kütleli proteinler olduğunu bildirilmiştir (Egerton ve ark., 1997).

Bu çalışmada, *C. pseudotuberculosis*'in açlık stresine maruz bırakıldığında ve genel besiyerlerinde üretildiğinde protein profilleri arasındaki farklılıkların incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

***C. pseudotuberculosis* suşları:** Bir adet referans (ATCC 19410) ve daha önceden izole edilip suş bankasında saklanan bir saha izolatu olmak üzere 2 adet *C. pseudotuberculosis* suşu Dollvet Biyoteknoloji A.Ş.'den temin edilmiştir. Bu çalışma "Hayvan Deneyleti Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik" in 8(k) maddesi uyarınca HADYEK iznine tabi değildir.

***C. pseudotuberculosis* suşlarının doğrulanması:** Referans (ATCC 19410) ve izole edilen *C. pseudotuberculosis* suşlarının VİTEK/COMPACT VK2C22273 ile identifikasyonları teyit edildikten sonra suşlara PZR yapıldı (forward primer PLD-F 5'-ATA AGC GTA AGC AGG GAG CA-3' / reverse primer PLD-R1 5'-ATC AGC GGT GAT TGT CTT CC-3) ve numunelerin *C. pseudotuberculosis* olduğu doğrulandı. Toplam 50 µL PCR karışımı; 5 µL PCR Buffer (10 mMTris-HCl, pH:9.0, 50 mMKCl, %0,1 Triton X-100), 5 µL 25 mM MgCl₂, 250 mM dNTPs, 1 µL her bir primerden, 2 µL Taqpolimeraz ve 5 µL template DNA içerdi. Amplifikasyon aşaması; 95 °C'de 3 dakika ön denaturasyon, daha sonra 1 dakika 95 °C'de 1 dk, 58 °C'de 40 saniye, 68 °C'de 90 saniye olarak 40 döngü halinde yapıldı. Son aşamada da, 1 kez 68 °C'de 7 dakika final zincir uzaması ile amplifikasyon tamamlandı (Pacheco ve ark., 2007). PZR numuneleri yatay elektroforez'de %1.5'luk ethidium bromid içeren (0.5 mg/mL) agaroz jelde (70 Voltta, 50 dakika-1 saat aralığında) yürütüldü. Süre sonunda agaroz jel ultraviolet ışık altında gözlemlendi.

***C. pseudotuberculosis* suşlarının çoğaltılması:** Referans suş ve izolat, %5 koyun kanlı agarlara ekilerek %5 CO₂ 'li inkübatörde 24 saat inkübe edildi. Süre sonunda üremesi görülen besiyerlerinden suşlar toplanarak içlerinde 5'şer ml Tryptic Soy Broth (TSB) ve Roswell Park Memorial Institute (RPMI) besiyeri bulunan 15 ml'lik falkonlara pasajı yapılarak %5 CO₂ 'li inkübatörde 24 saat inkübe edildi. Süre sonunda yine içlerinde 9'ar ml Tryptic Soy Broth (TSB) ve RPMI besiyeri bulunan 15 ml'lik falkonlara 1'er ml alınarak 1/10 oranında pasajları yapılarak %5 CO₂ 'li inkübatörde 24 saat inkübe edildi.

***Corynebacterium pseudotuberculosis* suşlarının SDS-PAGE ile analizi:** Üreyen bakteri kültürü 6000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra üstteki süpernatant kısmı atılarak dipte kalan kültür, yükleme tamponu (Laemmli 2X buffer) (Sigma Lot #SLBT2607), 500mM Tris/HCl pH 6.8); %4 (w/v SDS; %10 (v/v gliserol; %10 (v/v) 2-β-merkaptetanol ve %0.004 bromfenol mavisi) ile 1/3 oranında dilüe edilerek 5 dakika 95 °C'de kaynatıldı (Güllü Yücestepe, 2023; Laemmli, 1970).

Numunelerin yüklenmesi için, %12'lik ayırıcı (resolving) jel monomer homojenizasyonu hazırlandı ve hazırlanan jel karışımı mikropipet ile döküldü (4 ml saf su (dH₂O), 3,3 ml %30 Akrilamid/Bis-akrilamid, 2,5 ml 1,5 M Tris (pH: 8.8), 100

µl %10 SDS, 100 µl %10 Amonyum Persülfat ve 4 µl TEMED). Jel taksim edildikten sonra, yürütme jelinin üzerinde hava kabarcığı kalmaması amacıyla mikropipet yardımı ile distile su döküldü. Jelde polimerizasyonun sağlanması nedeniyle 20-30 dakika beklendi. Yürütme jeli polimerizasyonundan sonra aynı prosedür yükleme jeli için de yapıldı. Yükleme jelindeki polimerizasyondan emin olunduktan sonra %4'lük yükleme (stacking) jeli için monomer homojenizasyonu hazırlandı ve hazırlanan jel karışımı mikropipet ile döküldü (4 ml saf su (dH₂O), 3,3 ml %30 Akrilamid/Bis-akrilamid, 2,5 ml 1,5 M Tris (pH: 6.8), 100 µl %10 SDS, 100 µl %10 Amonyum Persülfat ve 4 µl TEMED) (Öztürk ve ark., 2023)

Hazırlanan yükleme jeli bekleme yapılmadan ayırıcı jelin üstüne eklendi ve camlara uygun kalınlıkta olan jel tarakları yerleştirildi. Jelde polimerizasyonun sağlanması nedeniyle 20-30 dakika beklendi. Yükleme jelindeki polimerizasyondan emin olunduktan sonra taraklar jel bozulmayacak şekilde çıkarıldı ve jel camlar ile birlikte elektroforez sistemine yerleştirildi. Marker (10 µl) ve numuneler (20 µl) jeldeki kuyucuklara yüklendi.

Elektroforez yürütme solüsyonu [Running Buffer; 1.92 M Glycine 14.4 gr, 0.25 M Tris Base 3 gr, %1 SDS 1 gr, 1000 ml saf su (dH₂O)] hazırlanıp jel tankına (Mini-PROTEAN Tetra Cell) eklendi. Örnek proteinler, yükleme jelinde 40V sabit akımda 30 dakika, yürütme jeline geçildiğinde ise 120 Volt sabit akımda yaklaşık 2 saatte ayrıştırıldı. Yürütme tamamlandıktan sonra jel boyama çözeltisinin içine

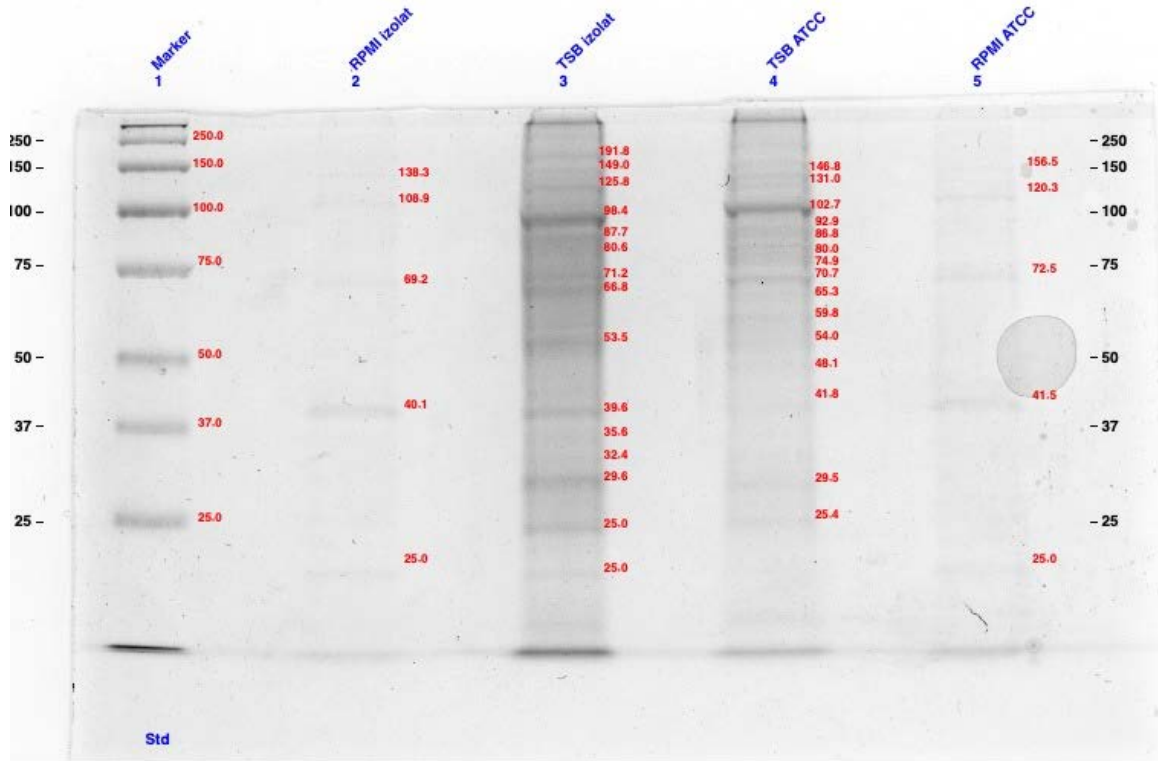
konularak (Coomassie Blue Staining, Thermo) yatay çalkalayıcıda (MR-12, BIOSAN) 3-4 saat bekletildi.

Boyama solüsyonundan alınan jel, boyayı uzaklaştırmak için hazırlanan destaining buffer [(200 ml Methanol, 100 ml Glacial asetik asit, 700 ml saf su (dH₂O))] içerisine konuldu. Jel boyandıktan sonra büyüklüklerine göre ayrılmış proteinler gözlemlendi.

Bulgular

Identifikasyon için PZR yapılan *C. pseudotuberculosis* numuneleri 203 bp'lik DNA bantları gözlemlendiğinden pozitif olarak kabul edildi (Sakmanoğlu ve ark., 2015).

Bu çalışmada SDS-PAGE analizi yapılan 2 adet suş ve 2 adet farklı besiyerinin farklı protein profilleri gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 1). RPMI'de üretilen saha izolatin proteinleri sırasıyla; 25 kDa, 40.1 kDa, 59.2 kDa, 108.9 kDa ve 138.3 kDa olarak görülürken, RPMI ATCC suşunda sırasıyla; 25 kDa, 41.5 kDa, 72.5 kDa, 120.3 kDa ve 156.5 kDa luk bantlar saptandı. TSB de üretilen saha suşunda sırasıyla; 25 kDa, 29.6 kDa, 32.4 kDa, 35.6 kDa, 39.6 kDa, 53.5 kDa, 66.8 kDa, 71.2 kDa, 72.5 kDa, 74.9 kDa, 77.7 kDa, 80.6 kDa, 86.8 kDa, 89.2 kDa, 92.9 kDa, 98.4 kDa, 102.7 kDa, 108.9 kDa, 125.8 kDa, 149.0 kDa, 191.8 kDa bantları görüldü. TSB'de üretilen ATCC suşunda sırasıyla; 25.4 kDa, 29.5 kDa, 32.4 kDa, 35.6 kDa, 39.6 kDa, 41.8 kDa, 48.1 kDa, 54.0 kDa, 59.8 kDa, 65.3 kDa, 70.7 kDa, 74.9 kDa, 80 kDa, 86.8 kDa, 92.9 kDa, 102.7 kDa, 131 kDa, 148.8 kDa, 156.5 kDa luk bantları görüldü.



Şekil 1. *Corynebacterium pseudotuberculosis* suşlarının SDS-PAGE ile analizi.

1: Marker, 2: *C. pseudotuberculosis* saha izolatu RPMI kültürü, 3: *C. pseudotuberculosis* saha izolatu TSB kültürü, 4: *C. pseudotuberculosis* ATCC 19410 izolatu TSB kültürü, 5: *C. pseudotuberculosis* ATCC 19410 izolatu RPMI kültürü.

RPMI'de üretilen *C. pseudotuberculosis* saha izolatu ile ATCC 19410 izolatının protein profilleri değerlendirildiğinde, her iki izolatta da 5'er protein bandı bulunduğu, 25 kDa büyüklüğündeki proteinin ortak olduğu ve diğer 4 proteinin farklı kDa'lara sahip olduğu görülmektedir.

TSB'de üretilen *C. pseudotuberculosis* saha izolatu ile ATCC 19410 izolatının protein profilleri değerlendirildiğinde, saha izolatında 25 kDa-191.8 kDa arasında değişen 14 bant bulunurken ATCC 19410 izolatında 25.4 kDa-145.8 kDa arasında değişen 15 bant bulunmakta ve benzer proteinlere sahip olmadıkları görülmektedir.

Tartışma ve Sonuç

Kazeöz lenfadenit, dünya genelinde endemik olarak ortaya çıkan ve küçük ruminantlarda çok büyük maddi kayıplara sebep olan bir hastalıktır. OIE'nin 2009 yılındaki yayınlamış olduğu verilerde 1996-2004 yıllarını kapsayan süreçte 201 tane ülkeden alınan veriler karşılaştırılmış olup, 64 tane ülkede hastalığın görüldüğü ve bu ülkelerin de 19 tanesinin Amerika Kitasında, 18 tanesinin Afrika Kitasında, 14 tanesinin Avrupa Kitasında, 11 tanesinin Asya Kitasında ve 2 tanesinin de Okyanusya'da görüldüğü bildirilmiştir (OIE 2009). Ülkelere göre enfeksiyonun prevalansıya ilgili oldukça farklı değerler gözlenmiştir. Bu oran, yaklaşık olarak %8-90 aralığında değişkenlik göstermektedir (Ali ve ark., 2016; Kuria ve Holstad, 1989; Middleton ve ark., 1991; Stanford ve ark., 1998). Kazeöz lenfadenitin prevalansıya ilgili değerlendirmeler, genellikle enfeksiyonun görüldüğü eksternal formdaki lezyonlara bakılarak yapılmaktadır. Bununla beraber hastalığın gerçek prevalansının saptanmasında internal formdaki lezyonlara da özellikle önem verilmesi gerekmektedir (Abebe ve Tessema, 2015).

Açlık stresi, bakterinin protein ekspresyonunu azaltarak enerji tasarrufu yapmasına yardımcı olur. Bu, bakterinin stres faktörlerine karşı direncini artırmaya, bakterinin hücre duvarını güçlendirmesine, hücre içi stresi azaltmaya yardımcı olabilir. Açlık stresinin, ayrıca yeni proteinlerin ekspresyonunu tetikleyerek bakterinin strese karşı adaptasyonuna, bakterinin stres faktörlerinden kaçmasına veya konakçı hücrelerden kurtulmasına katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (Lee, J.H., 2017).

Çalışmamızda RPMI besiyerinde üreyen suşlar büyüklükleri 25-157 kDa arasında değişen yaklaşık 5 band sergilerden TSB'de üreyen suşlar büyüklükleri 25-192 kDa arasında değişen yaklaşık 15 band sergilemişlerdir. Bakterinin çok sayıda virulens faktörü bulunmaktadır. Bunlar başta fosfolipaz D olmak üzere farklı moleküler ağırlıklara sahip ATP bağlayıcı sitoplazmik membran proteinleri (30-60 kDa), demir bağlayıcı siderefor proteinleri (Ferritin, Siderophores, 50-100 kDa), fagositozdan kaçınma proteinleri (LcrV, LcrM, LcrP, 10-30 kDa), bakteriyel duvar proteinleri (M protein, 20-100 kDa, bakteriyel zar proteinleri (Fimbriae, Porins, 10-50 kDa), bakteriyel enzim proteinleri (Katalaz, Superoksit dismutaz, DNA polimeraz, 10-100 kDa) arasında molekül ağırlıklarına sahiptirler (Egerton ve ark.,1997).

Bu çalışmada, RPMI besiyerinde açlık stresine maruz kalan suşların SDS-PAGE analizinde ortaya koyduğu bant

sayısı, genel besiyerinde üreyen suşların üçte biri kadar olmuştur. Bunun muhtemel nedeni bol miktarda besine sahip oldukları için genel besiyerlerinde, bakterinin daha hızlı üremesi ve bakteriyel enzim protein düzeylerinin artması olabilirken diğer bir nedeni de açlık stresi altında enerji tasarrufu nedeniyle sadece hayatta kalma ile ilgili gen ürünlerinin ifadesine bağlı olması kuvvetle muhtemeldir. Açlık stresine maruz kalan suşların sergilediği proteinlerin büyük bir olasılıkla 50-100 kDa luk siderefor proteinleri olduğu düşünülmektedir. Açlık stresine maruz kalan bakterilerin hayatta kalmaları için zorunlu olan demiri elde etmek üzere bu proteinlerin ifadelerini artırması, bu strese karşı bir adaptasyon mekanizması olarak değerlendirilmektedir (Lee ve ark., 2017). Bu farklılıklar, açlık stresinin bakterinin protein üretimini nasıl etkilediğini göstermektedir. Açlık stresi altında, bakteri enerji tasarrufu sağlamak için ATP üretimini artırmaya, demir alımını artırmaya ve fagositozdan kaçmaya odaklanır. Bu nedenle, bu işlevlerle ilişkili proteinlerin düzeylerinde artış görülür (Lee ve ark., 2017).

Açlık stresine maruz kalan *C. pseudotuberculosis* izolatu ile SDS-PAGE analizi kullanılarak yapılan bir çalışmada, açlık stresinin bakterinin toplam protein ekspresyonunu %30-50 oranında azaltmış olup, bakterinin enerji tasarrufu yapmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir (Dorella ve ark., 2006)

Sonuç olarak, açlık stresine ve genel besiyerlerine maruz kalan *C. pseudotuberculosis* suşlarında görülen protein bantları, bakterinin hayatta kalmasını ve büyümesini sağlamaya yardımcı olan çeşitli işlevlerle ilişkilidir. Bu çalışmada, strese maruz bırakılan *C. pseudotuberculosis* suşları arasında protein yapıları arasında profil farklılıkları olduğu tespit edilmiştir. Bu durum bakterinin enerji tasarrufu sağlamak için gereksiz proteinlerin ekspresyonunu azaltması olabilir. RPMI da üreyen suşların sergilediği, ancak TSB'de üreyen suşların sergilemediği proteinlerin büyük bir olasılıkla 50-100 kDa luk siderefor proteinleri olduğu düşünülmektedir. *C. pseudotuberculosis* suşlarının açlık stresine maruz bırakıldığında demir metabolizması ile ilgili protein düzeylerindeki değişikliklerin, daha net bir şekilde ortaya konması için, açlığa maruz kalan ve kalmayan *C.pseudotuberculosis* suşlarının tüm hücre proteinlerinin antijen olarak kullanıldığı ve açlık stresinde arttığı düşünülen siderefor virülans faktörlerine karşı monoklonal antikorlar kullanılarak yapılacak immunoblot testi çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Çıkar çatışması

Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik izin

Bu çalışma "Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" Madde 8 (k) gereği HADYEK iznine tabi değildir.

Finansal destek

Bu çalışmada herhangi bir kurumdan destek alınmamıştır.

Benzerlik Oranı

Makalenin benzerlik oranının sisteme yüklenen raporda belirtildiği gibi %14 olduğunu beyan ederiz.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: SEG
Tasarım: MD, SEG
Denetleme/Danışmanlık: SEG
Veri Toplama ve/veya İşleme: MD, SEG
Analiz ve/veya Yorum: MD, SEG
Kaynak Taraması: MD, SEG
Makalenin Yazımı: MD, SEG
Eleştirel İnceleme: SEG

Kaynaklar

- Abebe D, Tessema TS. 2015: 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.* 61, 469-476.
- Ali AD, Mahmoud AA, Khadr AM, Elshemey TM, Abdelrahman AH. 2016: *Corynebacterium pseudotuberculosis*: disease prevalence, lesion distribution, and diagnostic comparison through microbiological culture and molecular diagnosis. *AJVS.* 51(2): 189-198.
- Aslı Sakmanoğlu, Hasan Hüseyin Hadimli, Osman Erganiş, Yasemin Pınarkara, Zafer Sayın, Kürşat Kav. 2015: Koyunlardan izole edilen *Corynebacterium pseudotuberculosis* suşlarının identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Eurasian J Vet Sci.* 31, 2, 116-121.
DOI:10.15312/EurasianJVetSci.2015210083.
- Bastos BL, Portela RWD, Dorella FA, Ribeiro D, Seyffert N, Castro TLP, Miyoshi A, Oliveira SO, Meyer R, Azevedo V. 2012: *Corynebacterium pseudotuberculosis*: immunological responses in animal models and zoonotic potential. *J Clin Cell Immunol.* S4:005: doi:10.4172/2155-9899.S4-005.
- Billington SJ, Esmay PA, Songer JG, Jost BH. 2002: Identification and role in virulence of putative iron acquisition genes from *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *FEMS Microbiology Letters.* 208:41-45 DOI 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11058.x.
- Dorella FA, Pacheco LGC, Olivera SC, Miyoshi A, Azevedo V. 2006: *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. *Vet Res.* 37: 201-218.
- Egerton D.J., Buxton P.A. 1997: Characterization of detergent-soluble proteins of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Journal of Applied Microbiol.* 82(6), 673-680.
- Gomide ACP, Ibraim IC, Alves JTC, de Sá PG, de Oliveira Silva YR, Santana MP, Silva WM, Folador EL, Mariano DCB, de Paula Castro TL, Barbosa S, Dorella FA, Carvalho AF, Pereira FL, Leal CAG, Figueiredo HCP, Azevedo V, Silva A, Folador ARC. 2018: Transcriptome analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar equi in two conditions of the environmental stress. *Gene.* 677:349-360. doi: 10.1016/j.gene.2018.08.028. Epub 2018 Aug 8. PMID: 30098432.
- Güllü Yüce A., 2023: Şanlıurfa Bölgesindeki Evcil Kanatlılardan *Mycoplasma gallisepticum* İzolasyonu ve Moleküler Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa.
- İlhan Z. 2003: Koyunlarda *Corynebacterium pseudotuberculosis*'in ELISA ve dot-blot ELISA ile teşhisi. *Turk J Vet Anim Sci.* 27(6): 1327-1333.
- Kuria JK, Holstad G. A. 1989: Seroepidemiological investigation of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep flocks in southern Norway. *Acta Vet Scand.* 30: 107-108.
- Laemmli UK. 1970: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227(5259):680-5.
- Lee, J. H., Kim, J. Y., Lee, Y. J. 2017: Effect of starvation on the protein expression profile of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Antonie van Leeuwenhoek,* 110 (12), 2565-2575.
- Middleton MJ, Epstein WM, Gregory GG. 1991: Caseous lymphadenitis on Flinders Island: prevalence and management surveys. *Aust Vet J.* 68: 311-312.
- OIE World Health Organisation for Animal Health. Available at: http://www.oie.int/hs2/sit_mald_cont.aspc_mald=156andc_cont=6andanee=2004.2009 (Accession date: 02.02.2020).
- Öztürk, A., Karaca, M. 2023: *Brucella* spp. Efficacy of agarose gel electrophoresis method for isolation and identification. *Turkish Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.* 35(3), 279-283.
- Pacheco LGC, Pena RR, Castro TLP, et al., 2007: Multiplex PCR assay for identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from pure cultures and for rapid detection of this pathogen in clinical samples. *J Med Microbiol.* 56, 480- 486.
- Parin U, Kırkan Ş, Ural K, Savaşan S, Erbaş G, Gültekin M, Yüksel HT, Balıkcı C. 2018: Molecular identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in sheep. *Acta Vet Brno.* 87: 3-8.
- Ribeiro D, Rocha Fde S, Leite KM, Soares Sde C, Silva A, Portela RW, Meyer R, Miyoshi A, Oliveira SC, Azevedo V, Dorella FA. 2014: An iron-acquisition-deficient mutant of *Corynebacterium pseudotuberculosis* efficiently protects mice against challenge. *Veterinary Research* 45(1):28 DOI 10.1186/1297-9716-45-28.
- Ruiz JC, D'Afonseca V, Silva A, Ali A, Pinto AC. 2011: Evidence for reductive genome evolution and lateral acquisition of virulence functions in two *Corynebacterium pseudotuberculosis* strains. *PLoS One.* 6(4):e18551.
- Stanford K, Brogden KA, McClelland LA, Kozub GC, Audibert F. 1998: The incidence of caseous lymphadenitis in Alberta sheep and assessment of impact by vaccination with commercial and experimental vaccines. *Can J Vet Res.* 62: 38-43.