



RESEARCH ARTICLE

Koyunlardan izole edilen *Corynebacterium pseudotuberculosis* suşlarının identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları

Aslı Sakmanoğlu¹, Hasan Hüseyin Hadimli¹, Osman Erganiş¹, Yasemin Pınarkara², Zafer Sayın^{1*}, Kürşat Kav¹

¹Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, 42075, Selcuklu,

²Department of Food Technology, Sarayonu Vocational School, University of Selcuk, 42430, Sarayonu, Konya, Turkey

Geliş: 23.11.2014, Kabul: 04.03.2015

*zafersayin@gmail.com

Koyunlardan izole edilen *Corynebacterium pseudotuberculosis* suşlarının identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları

Eurasian J Vet Sci, 2015, 31, 2, 116-121
DOI:10.15312/EurasianJVetSci.2015210083

Öz

Amaç: Bu çalışmada, Kazeöz Lenfadenitis (KLA)'li koyunların lenf düğümlerinden izole edilen *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. pseudotuberculosis*) izolatlarının biyokimyasal identifikasyonu, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile doğrulanması, fosfolipaz D (PLD) enzim aktivitesinin belirlenmesi ve antibiyotiklere duyarlılıklarının tespit edilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Toplam 1176 adet koyun KLA yönünden muayene edildi ve 1176 lenf düğümü bakteri izolasyonu için alındı. Örnekler, kanlı agar ekildi ve 37°C'de 48 saat mikroaerofilik olarak inkübe edildi. Şüpheli izolatların, morfolojik, biyokimyasal özellikleri PZR analizleri, *Rhodococcus equi* (*R. equi*) ve *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ile PLD enzim aktiviteleri belirlendi. Ayrıca, *C. pseudotuberculosis* izolatlarının 16 antibiyotiğe duyarlılıkları disk diffüzyon metodu ile belirlendi.

Bulgular: Toplam 72 şüpheli izolat biyokimyasal özelliklerine göre *C. pseudotuberculosis* olarak tanımlandı. Tüm izolatlar *S. aureus* ile antagonist ve *R. equi* ile sinerjik olarak PLD enzim aktivitesi gösterdi. İzolatların tümü PZR ile *C. pseudotuberculosis* olarak doğrulandı. *C. pseudotuberculosis* izolatlarının farklı antibiyotiklere değişik oranlarda duyarlı oldukları, izolatların büyük çoğunluğunun (%98) florfenikole duyarlı, %62.5'inin ampisilin ve linkomisine dirençli olduğu belirlendi.

Öneri: Enfeksiyonun antibiyotiklerle in-vivo tedavide başarısızlığı ile ilgili çok sayıda veri bulunmasına rağmen etkenin bu çalışmada kullanılan pek çok antibiyotiğe in-vitro duyarlı olduğu, PZR'in ve bu çalışmada kullanılan primerlerin, biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanabilen izolatların doğrulanmasında faydalı olduğu ifade edilebilir.

Anahtar kelimeler: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, koyun, kazeöz lenfadenitis, PZR

Abstract

Aim: The aim of this study was to identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. pseudotuberculosis*) isolated from lymph node of sheep with caseous lymphadenitis (CLA) by biochemical characteristics and confirmation by Polymerase Chain Reaction (PCR). Also, phospholipase D enzyme activities and antimicrobial susceptibility of isolates were determined.

Materials and Methods: A total of 1176 sheep were examined the presence of CLA, and 1176 of lymph node were collected for bacteria isolation. The samples were inoculated onto Blood Agar Base supplemented with 5% defibrinated sheep blood at 37°C for 48 hours in microaerophilic atmosphere. Morphological and biochemical characteristic of *C. pseudotuberculosis* suspicious isolates were determined. PCR analysis was performed to confirmation of biochemical identification. Also, phospholipase D enzyme activities with *Rhodococcus equi* (*R. equi*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and antimicrobial susceptibility of isolates for 16 antimicrobial were determined by disc diffusion methods.

Results: Totally of 72 *C. pseudotuberculosis* were identified according to biochemical characteristics. All isolates showed PLD enzyme activities antagonists with *S. aureus* and synergistically with *R. equi*. All isolates were confirmed by PCR as *C. pseudotuberculosis*. Isolates were determined to be sensitive to different antibiotics at different rates. The majority of the isolates were susceptible to florfenicol (98%), while ampicillin and lincomycin resistance was determined as 62.5%.

Conclusion: Although there are many data related to the failure of the in-vivo treatment of CLA infection by antibiotics, *C. pseudotuberculosis* was determined as in-vitro sensitive to many antibiotics used in this study. PCR method and primers used in this study was determined very useful for confirmation of *C. pseudotuberculosis* identified by biochemical characteristic

Keywords: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, sheep, caseous lymphadenitis, PCR



Giriş

C. pseudotuberculosis tüm dünyada, küçük ruminantlarda (koyun-keçi) periferik lenf düğümleri, deri altı dokular ve iç organlarda apse oluşumu ile karakterize, ekonomik olarak önemli, zoonoz, kronik bir enfeksiyon olan Kazeöz Lenfadenitis (KLA)'e sebep olmaktadır (Erganiş ve ark 1990, Baird ve Fontaine 2007, Fontaine ve Baird 2008, Al-Gaabary ve ark 2010).

Gram pozitif koko-basil olan *C. pseudotuberculosis* daha çok, küçük ruminantlarda ve farklı memeli türlerinde (At, lama, alpaga ve bizon) kronik enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Esterabadi ve ark 1975, Doherr ve ark 1998, Arsenault ve ark 2003, Yeruham ve ark 2003, Hawari 2008). Etken, apse oluşumu için gerekli olan fosfolipaz D (PLD) ve sfingomyelinaz aktiviteye sahip 31.5 kDa ağırlığında bir ekzotoksin üretmektedir. Ekzotoksin doğal enfekte hayvanların serumunda belirlenen immünodominant bir antijendir. Saha suşları tarafından üretilen bu toksinler mutant türler tarafından üretilmemektedir (Hodgson ve ark 1994).

Etkenin çevrede yaygın olarak bulunması, enfekte hayvan ve/veya kontamine materyal ve ekipmanlar ile sinsi bir şekilde sürüde bulunan diğer hayvanlara bulaşması önemlidir. Hastalık; kalitesiz yün oluşumu, süt üretiminde düşme, üreme bozuklukları, erken doğum ve karkasların kullanılamaması gibi nedenlerle özellikle küçük ruminantlarda önemli ekonomik kayıplar oluşturmaktadır (Pepin ve ark 1994, Paton ve ark 1988, Paton ve ark 2003, O'Reilly ve ark 2008). Bununla birlikte sığır, at ve insanlarda da bazen enfeksiyon yapabilmektedir (Esterabadi ve ark 1975, Peel ve ark 1997, Doherr ve ark 1998). Çiftlik ve kesimhane çalışanlarında enfeksiyon riski her zaman bulunmaktadır (Peel ve ark 1997). *C. pseudotuberculosis* sütte de bulunabildiğinden, enfekte hayvanların çiğ sütü ile etkenin insanlara bulaşması mümkündür (Yeruham ve ark 1997).

KLA antibakteriyel ilaçlarla bütünü ile tedavi edilememekte, çoğunlukla semptomatik ya da açılan apselere müdahale edilmekte, bu nedenle tedavi yerine korunma önem taşımaktadır. Sürüdeki kötü yönetim, kalabalık barındırma, yetersiz hijyen, kontamine barınaklar ve meralar, sürüdeki primer veya sekonder enfeksiyonların bulunması gibi değişik predispoze faktörlerin oluşması hastalığın görülme sıklığını artırmaktadır (Judson ve Songer 1991).

Birçok ülkede KLA'nın gerçek prevalansı olduğundan daha düşük olarak bildirilmektedir. Tahmini olarak hastalığın prevalansı %8-90 arasında olduğu ifade edilmektedir (Erganiş ve ark 1990). Bu çalışmada, KLA'li koyunların lenf düğümlerinden izole edilen *C. pseudotuberculosis* izolatlarının biyokimyasal identifikasyonu, PZR ile doğrulanması, PLD enzim aktivitesinin ve antibiyotiklere duyarlılıklarının tespit edilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

C. pseudotuberculosis suşlarının izolasyonu ve identifikasyonu

Mezbahada KLA'li koyun karkaslarından alınan, 1176 adet apseleşmiş lenf düğüm örnekleri %5 koyun kanı içeren kanlı agara ekilerek, 37°C'de 48 saat mikroaerofilik etüvde inkübe edildi. İnkubasyon sonrası küçük, beyaz, kuru ve kolay parçalanabilen koloniler, Gram boyama metodu ile boyandı. Gram pozitif, küçük koko-basiller seçilerek subkültürleri yapıldı. Katalaz ve üreaz pozitif, trehaloz ve maltoz negatif, *R. equi* ile sinerjik ve *S. aureus* ile antagonistik hemoliz özelliği veren suşlar *C. pseudotuberculosis* olarak tanımlandı (Erganiş ve ark 1990, Fontaine ve Baird 2008).

PZR analizi

DNA izolasyonu

Biyokimyasal özelliklerine göre *C. pseudotuberculosis* olarak tanımlanan suşlardan; 300 µL distile su içeren ependorf tüpüne birkaç koloni alınarak; Cetinkaya ve ark (2002) ve Pacheco ve ark (2007) belirttikleri metoda göre DNA izolasyonları yapıldı.

Primerler

C. pseudotuberculosis izolatlarında, PLD gen bölgesi üzerinde, 203 bp'lik fragmanı kodlayan primerler ile PZR uygulandı.

PLD-F-5'-ATA AGC GTA AGC AGG GAG CA-3'

PLD-R1-5'-ATC AGC GGT GAT TGT CTT CC-3'

PLD-R2-5'-ATC AGC GGT GAT TGT CTT CCA GG-3'

Toplam 50 µL PCR karışımı; 5 µL PCR Buffer (10 mM Tris-HCl, pH:9.0, 50 mM KCl, %0.1 Triton X-100), 5 µL 25 mM MgCl₂, 4 µL 250 mM dNTPs, 1 µL her bir primer, 2 µL Taq polimeraz ve 5 µL template DNA içerdi. Amplifikasyon; 95°C'de 3 dakika ön denatürasyon, daha sonra 40 kez 95°C'de 1 dk denatürasyon, 58°C'de 40 sn bağlanma, 68°C'de 1 dk 30 sn zincir uzaması ile gerçekleştirildi. Son olarak 1 kez 68°C'de 7 dakika final zincir uzaması ile amplifikasyon tamamlandı (Pacheco ve ark 2007). PZR ürünleri horizontal elektroforez'de ethidium bromidli (0.5 mg/mL), %1.5'lük agaroz jelde elektroforeze (70 V, 1 saat) tabi tutuldu. Jel ultraviyole ışık kaynağında incelenerek, 203 bp'lik DNA bantları *C. pseudotuberculosis* için pozitif olarak değerlendirildi.

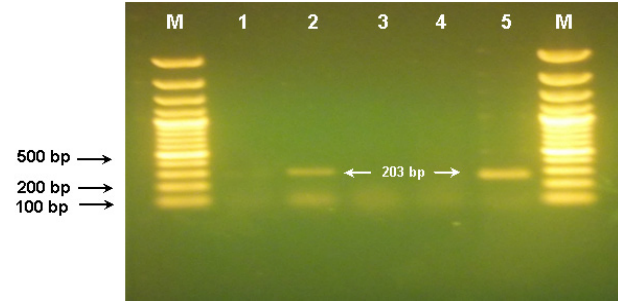
Antibiyotik duyarlılık testi

C. pseudotuberculosis izolatlarının antibiyotik duyarlılık testleri; oksitetrasiklin (30 µg, Oxoid, UK), gentamisin (10 µg, Oxoid, UK), eritromisin (15 µg, Oxoid, UK), kloksasilin (5 µg,





Resim 1. (A) *C. pseudotuberculosis* izolatlarının *R. equi* ile sinerjik hemoliz, (B) *S. aureus* ile antagonistik hemoliz özellikleri.



Oxoid, UK), ampisilin (25 µg, Oxoid, UK), amoksisilin (25 µg, Oxoid, UK), penisilin G (10 U, Oxoid, UK), enrofloksasin (5 µg, Oxoid, UK), sulbaktam+ampisilin (20 µg, Oxoid, UK), novobiosin (5 µg, Oxoid, UK), rifamisin (30 µg, Bioanalyse, UK), linkomisin (10 µg, Oxoid, UK), seftiofur (30 µg, Bioanalyse, UK), telitromisin (15 µg, Bioanalyse, UK), florfenikol (15 µg, Bioanalyse, UK), spiramisin (100 µg, Bioanalyse, UK) diskleri kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile %5 koyun kanı içeren Mueller-Hinton agarda (Oxoid) yapıldı (Bauer ve ark 1966, NCCLS 2003). Besiyerleri 37°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra sonuçlar değerlendirildi.

PLD enzim aktivitesinin belirlenmesi

C. pseudotuberculosis şüpheli izolatlar, *R. equi* ve *S. aureus* ile birlikte birbirlerine paralel olacak şekilde iki ayrı %5 koyun kanı içeren kanlı ağara ekildi. *R. equi* ile sinerjistik hemoliz ve *S. aureus* ile antagonistik hemoliz özelliğine göre PLD enzim aktivitesi belirlendi (Lopez ve ark 1966).

Bulgular

Bu çalışmada 1176 adet lenf düğümünün kültürü sonucunda koloni morfolojisi, mikroskopik morfoloji ve biyokimyasal özelliklerine göre 72 *C. pseudotuberculosis* identifiye edildi. İzolatların, *R. equi* ile sinerjistik ve *S. aureus* ile antagonistik-hemoliz oluşturduğu ve PLD enzim aktivitesine sahip olduğu belirlendi (Resim 1A, B). İzolatların tamamı, PZR analizinde 203 bp bölgesinde DNA bantı vererek *C. pseudotuberculosis* olarak doğrulandı (Resim 2).

C. pseudotuberculosis izolatlarının farklı antibiyotiklere değişik oranlarda duyarlı oldukları, izolatların büyük çoğunluğunun florfenikol (%98.6), novobiosin (%95.8), seftiofur ve telitromisine (%91.6) duyarlı, ampisilin (%62.5), linkomisin

(%62.5) ve spiramisine (%41.7) dirençli olduğu belirlendi (Tablo 1).

Tartışma

KLA bazı ülkelerde önemli ekonomik kayıplara sebep olurken, diğerlerinde nispeten önemsiz görülmektedir. Bundan dolayı, bazı ülkelerde 19. yüzyılın sonlarında hastalık vakaları bildirilirken, İngiltere gibi ülkelerde keçilerde ilk teşhis 1989'da rapor edilmiştir. Hastalık, Avrupa, Afrika, Ortadoğu, Avusturalya ve Amerika'nın çoğunluğunda yaygındır ve koyunların önemli bir problemi olarak değerlendirilmektedir. Dünyanın farklı bölgelerinden koyun/keçi orjinli *C. pseudotuberculosis* izolatları arasında yakın bir genotipik ilişki olabileceği ileri sürülmektedir. Bunun nedeni olarak Avusturalya ve Amerika kıtalarına yapılan yeni göçler ve koyun ihracatı ile dünyaya hastalığın yayıldığı düşünülmektedir (Baird ve Fontaine 2007). Birçok ülkede hastalığın prevalansı olduğundan daha düşük olarak bildirilmektedir. Bununla birlikte yaklaşık olarak %8-90 arasında olduğu ifade edilmektedir (Erganiş ve ark 1990, Cetinkaya ve ark 2002, Al-Gaabary ve ark 2009, Guimares ve ark 2009, Seyffert ve ark 2010). Türkiye'de konu ile ilgili epidemiyolojik çalışma yapılmamakla birlikte farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda, özellikle koyun sürülerinde yaygın olduğu belirtilmektedir (Erganiş ve ark 1990, Cetinkaya ve ark 2002, İlhan 2013). Ancak, Türkiye'de KLA'nın oluşturduğu gerçek ekonomik kayıplar bilinmemektedir. Çok hızlı bulaşması/yayılması nedeniyle, bir sürüye KLA girdikten sonra hastalığın eradikasyonu oldukça zordur. KLA ile mücadele için ilk adım, enfekte olmayan hayvan yada sürülere enfeksiyonun bulaşmasını önleyebilmek için enfekte hayvanların belirlenmesidir. *C. pseudotuberculosis* in-vitro olarak çeşitli antibiyotiklere duyarlı olmasına rağmen, in-vivo olarak genellikle hastalık antibiyotiklerle tedavi edilememekte yada sınırlı olarak tedavi edilebilmektedir (Judson ve Songer 1991, Baird 2006). Cerrahi olarak apselenmiş lenf düğümlerinin uzaklaştırılması mümkün olmakla birlikte, tüm sürü değerlendirildiğinde zahmetli, maliyetli ve gerçekleştirilmesi güç olabilmektedir (Baird 2006).

Farklı kaynaklardan izole edilen *C. pseudotuberculosis* izolatlarının arasında yakın bir genotipik ilişki olabileceği ileri sürülmektedir (Costa ve ark 1998, Literak ve ark 1999, Cetinkaya ve ark 2002, Pacheco ve ark 2007). Önceleri nitratın nitrite indirgenme özelliğine göre *C. pseudotuberculosis* izolatları 2 biyotip olarak identifiye edilmişlerdir. Nitrat-pozitif suşlar at ve sığırlardan izole edilirken, nitrat-negatif suşlar koyun, keçi ve sığırlardan izole edilmişlerdir. Daha sonra karşılaştırmalı olarak, biyokimyasal karakterizasyon ve *C. pseudotuberculosis*'in kromozomal DNA'sının restriksiyon analizleri sonucu; nitrat pozitif suşlar biovar equine ve nitrat negatif suşlar biovar ovine olarak tanımlanmıştır (Baird ve Fontaine 2007).

Tablo 1. *C. pseudotuberculosis* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılıkları.

Antibiyotik	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%
Amoksisilin	56	77.7	16	22.3
Ampisilin	27	37.5	45	62.5
Enrofloksasin	60	83.3	12	16.7
Eritromisin	50	69.4	22	30.6
Florfenikol	71	98.6	1	1.40
Gentamisin	59	81.9	13	18.1
Kloksasilin	40	55.5	32	44.5
Linkomisin	27	37.5	45	62.5
Novobiosin	69	95.8	3	4.20
Oksitetrasiklin	59	81.9	13	18.1
Penisilin G	60	83.3	12	16.7
Rifamisin	59	81.9	13	18.1
Seftiofur	66	91.6	6	8.40
Spiramisin	42	58.3	30	41.7
Sulbaktam+Ampisilin	55	76.3	17	23.7
Telitromisin	66	91.6	6	8.40

Brezilya'da *C. pseudotuberculosis* enfeksiyonunun koyunlarda prevalansı %70.9 ve sürü prevalansının %95.9 olduğu belirtilerek KLA ile kontrol ve eradikasyon programlarına ihtiyaç duyulduğu ifade edilmiştir (Guimares ve ark 2009). Seyffert ve ark (2010), Brezilya'da *C. pseudotuberculosis*'in salgılanan proteinlerine karşı hazırladıkları indirekt ELISA ile test ettikleri keçilerin çoğunluğunda (%78.9) ve sürülerin %98'inde en az bir hayvanda KLA seropozitiflik bulduklarını belirtmişlerdir. Al Gaabary ve ark (2009) keçilerde ve koyunlarda KLA'nın prevalansını klinik ve bakteriyolojik yoklamalara göre sırasıyla %19.23 ve %17.32 olarak belirlemişlerdir. Klinik ve bakteriyolojik yoklamalara göre prevalansları koyunlarda %23.33 ve %22.10, keçilerde %11.04 ve %7.77 olarak belirtmişlerdir. Hastalık prevalansını erkekler (%12.42) göre dişilerde (%19.67) belirgin olarak daha yüksek ve enfeksiyonun en sık görüldüğü yaşı ise %47.3 ile 1-2 yaşlı hayvanlar olarak bildirmişlerdir. Kişilere ait sürülerde hastalığın görülme oranının %45.52, devlet işletmelerinde %1.59 olduğunu ve kırkım günü penisilin uygulamasının ve kırkım sonrası dezenfeksiyon yapılmasının hastalığın oluşumunu azalttığını belirtmişlerdir. Cetinkaya ve ark (2002) Elazığ ili ve çevresinden alınan 118 adet apseli lenf yumrusundan %81.4 oranında etken izolasyonunun yapıldığını ve enfeksiyon prevalansının %2.2 olduğu bildirilmiştir.

Daha önceki dönemlerde *Corynebacterium* ssp. türlerinin identifikasyonunda çeşitli sebeplerden kaynaklanan (Referans suşlarının olmaması veya yetersiz olması, identifikasyon için karakterize edilen suşlardan alınan referans bilgilerin yetersizliği, uygun/doğru kriterlerin olmaması ve test

kriterlerinin yetersiz olması) güçlüklerle karşılaşmıştır (Baird ve Fontaine 2007). Bu nedenle özellikle *C. diphteria*, *C. pseudotuberculosis* ve *C. ulserans* türlerinin benzer morfolojik özellikler vermesi ve benzer hücre duvarı kompozisyonlarına sahip olmaları ve sistinaz enzimi üretmeleri ile birbiriyle ilişkili olarak dikkate alınmıştır. Ayrıca, *C. pseudotuberculosis* ve *C. ulserans*, *C. diphteria*'nın ürettiğine benzer bir toksin üretebilmektedirler. Bu 3 türün identifikasyonunda istenmeyen yanlışlıklar olabilmektedir (Çetinkaya ve ark 2002, Pacheco ve ark 2007).

KLA enfeksiyonunun teşhisinde, başka enfeksiyonlar ile benzer olmasının yanı sıra *C. pseudotuberculosis*'in uzun inkübasyon süresine ihtiyacı olmasından dolayı çeşitli sorunlarla karşılaşılmasına rağmen yaygın olarak kültür ve serolojik testler kullanılmaktadır (Shigidi 1979, Quinn ve ark 1984, İzgür ve ark 1999, Cetinkaya ve ark 2002). Etkenin identifikasyonunda biyokimyasal testler kullanılmasına rağmen, biyokimyasal özellikleri değişebildiğinden çoğunlukla yetersiz kalabilmektedir. (Erganiş ve ark 1990, Costa ve ark 1998, Dercksen ve ark 2000, Prescott ve ark 2002, Al-Gaabray ve ark 2010). Bunun için izole edilen *C. pseudotuberculosis* izolatlarının PZR ile doğrulanması gerektiği belirtilmektedir. (Ter Laak ve ark 1992, İlhan 2013). İnsan ve hayvanlardan izole edilen *Corynebacterium*'ların 60'dan fazla türü bulunmaktadır (Funke ve ark 1997). Geleneksel bakteriyolojik yöntemler ile *Corynebacterium* spp.'nin tiplendirilmesi kolay olmamaktadır. Bu sebeple 16 sRNA'da polimorfizm görülme sıklığının az olmasından dolayı tiplendirme 16 sRNA gen ile yapılmaktadır (Funke ve Bernerd 2003).





Doğal enfekte 12 adet koyun ve 44 adet keçiden alınan materyallerde *C. pseudotuberculosis*'in varlığını belirleyebilmek için multipleks PZR (mPZR) ile kültür metodunun sensitivite ve spesifitesinin karşılaştırılması sonucunda mPZR sensitivitesinin koyunlarda %91.7 keçilerde %95.4 ve her ikisinde de %94.6 olduğu bildirilmiştir (Pacheco ve ark 2007). Bu çalışmada Konya bölgesinde koyunlarda KLA enfeksiyonunun varlığı %6.12 olarak tespit edilmiştir. Lenf düğümlerinden izole edilen ve biyokimyasal özelliklerine göre *C. pseudotuberculosis* olarak tanımlanan, 72 izolatın tamamı PZR ile doğrulanmıştır. Bu çalışmada, *C. pseudotuberculosis* suşlarının oksitetrasiklin (%81.9), novobiosin (%95.8), sulbaktam+ampisilin (%76.3), rifamisin (%81.9), linkomisin (%37.5), enrofloksasin (%83.3), penisilin G (%83.3), florfenikol (%98.6), seftiofur (%91.6), eritromisin (%69.4), gentamisin (%81.9), kloksasilin (%55.5), ampisilin (%37.5), telitromisin (%91.6), spiramisin (%58.3) ve amoksisiline (%77.7) duyarlı olduğu belirlendi. Ancak Judson ve Songer (1991) farklı olarak aminoglikozit antibiyotiklere direnç bildirmişlerdir.

Öneri

Sonuç olarak Türkiye'de farklı bölgelerde yapılan çalışmalara oranla, Konya bölgesinde koyunlarda KLA enfeksiyon oranının (%6.12) yüksek olduğu, enfeksiyonun antibiyotiklerle in-vivo tedavide başarısızlığı ile ilgili çok sayıda veri bulunmasına rağmen etkenin bu çalışmada kullanılan pek çok antibiyotiğe in-vitro duyarlı olduğu, PZR'ine bu çalışmada kullanılan primerlerin, biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanan izolatların doğrulanmasında faydalı olduğu belirlenmiştir.

Teşekkür

Projeyi destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (BAP-09401091) teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Al-Gaabary MH, Osman SA, Ahmed MS, Oreiby AF, 2010. Abattoir survey on caseous lymphadenitis in sheep and goats in Tanta, Egypt. *Small Rum. Res*, 94, 117-124.
- Al-Gaabary MH, Osman SA, Oreiby AF, 2009. Caseous lymphadenitis in sheep and goats: Clinical, epidemiological and preventive studies. *Small Rum Res*, 87, 116-121.
- Arsenault J, Girard C, Dubreuil P, Daignault D, Galarneau J, Boisclair J, Simard C, Belanger D, 2003. Prevalence of and carcass condemnation from maedi-visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada. *Prev Vet Med*, 59, 67-81
- Baird GJ, 2006. Treatment of ovine caseous lymphadenitis. *Vet Rec*, 159, 500.

- Baird GJ, Fontaine MC, 2007. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. *J Comp Path*, 137, 179-210.
- Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M, 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Path*, 45, 493.
- Cetinkaya B, Karahan M, Atil E, Kalin R, De Baere T, Vaneec-houtte M, 2002. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolated from sheep and goats by PCR. *Vet Microbiol*, 88, 75-83.
- Costa LRR, Spier SJ, Hirsh D, 1998. Comparative molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* of different origin. *Vet Microbiol*, 62, 135-143.
- Dercksen DP, Brinkhof JMA, Toos Dekker-Nooren T, van Maanen K, Bode C F, Baird G, Kamp EM, 2000. A comparison of four serological tests for the diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. *Vet Microbiol*, 75, 167-175.
- Doherr MG, Carpenter TE, Wilson WD, Gardner IA, 1998. Application and evaluation of a mailed questionnaire for an epidemiologic study of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in horses. *Prev Vet Med*, 35, 241-253.
- Erganiş O, Kaya O, Ateş M, İstanbulluoğlu E, 1990. Konya EBK kombinasyonunda kesilen koyunlardaki apselli lenf yumruları üzerine mikrobiyolojik ve serolojik incelemeler. *Veterinarium*, 1, 8-11.
- Esterabadi AH, Entessar F, Hedayati H, Narimani AA, Sadr IM, 1975. Isolation of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from camel in Iran. *Archives de L'Institut Razi*, 27, 61-66.
- Fontaine MC, Baird GJ, 2008. Caseous lymphadenitis. *Small Rum Res*, 76, 42-48.
- Funke G, Bernard, KA. 2003. Coryneform gram-positive rods, in: *Manual of Clinical Microbiology*, Eds: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, ASM Press, Washington, USA, pp: 472-501.
- Funke G, von Graevenitz A, Clarridge JE, Bernard KA, 1997. Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clin Microbiol Rev*, 10, 125-159.
- Guimaraes AS, Seyffert N, Bastos BL, et al., 2009. Caseous lymphadenitis in sheep flocks of the state of Minas Gerais, Brazil: Prevalence and management surveys. *Small Rum Res*, 87, 86-91.
- Hawari AD, 2008. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection (Caseous Lymphadenitis) in camels (*Camelus dromedarius*) in Jordan. *Am J Anim Vet Sci*, 3, 68-72.
- Hodgson ALM, Tachedjian M, Corner LA, Radford AJ, 1994. Protection of sheep against caseous lymphadenitis by use of a single oral dose of live recombinant *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Infect Immun*, 62, 5275-5280.
- İlhan Z, 2013. Detection of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from sheep lymph nodes by PCR. *Revue Med Vet*, 164, 2, 60-66.
- Izgür M, Akan M, İlhan Z, 1999. Microorganisms isolated



- from cases of caseous lymphadenitis. *Vet J Ankara Univ*, 46, 43-50.
- Judson R, Songer JG, 1991. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: In-vitro susceptibility to 39 antimicrobial agents. *Vet Microbiol*, 27, 145-150.
- Literak I, Horvathova A, Jahnova M, Rychlik L, Skalka B, 1999. Phenotype and genotype characteristics of the Slovak and Czech *Corynebacterium pseudotuberculosis* strains isolated from sheep and goats. *Small Rum Res*, 32, 107-111.
- Lopez JF, Wong FM, Quesada J, 1966. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: First case of human infection. *Am J Clin Pathol*, 46, 562-567.
- Muckle CA, Gyles CL, 1982. Characterization of Strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Can J Comp Med*, 46, 206-208.
- NCCLS, 2003. National committee for clinical laboratory standards: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 8th edition, NCCLS document M2-A8 volume 23, no 1, USA.
- O'Reilly KM, Green LE, Malone FE, Medley GF, 2008. Parameter estimation and simulations of a mathematical model of *Corynebacterium pseudotuberculosis* transmission in sheep. *Prev Vet Med*, 83, 242-259.
- 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.
- Paton MW, Mercy AR, Sutherland SS, Ellis TM, 1988. The influence of shearing and age in the incidence of caseous lymphadenitis in Australian sheep flocks. *Acta Vet Scand*, 84, 101-103.
- Paton MW, Walker SB, Rose IR, Watt GF, 2003. Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep flocks. *Aust Vet J*, 81, 91-95.
- Peel MM, Palmer GG, Stacpoole AM, Kerr TG, 1997. Human lymphadenitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis*: Report of ten cases from Australia and review. *Clin Infect Dis*, 24, 185-191.
- Pepin M, Paton M and Hodgson AL, 1994. Pathogenesis and epidemiology of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep. *Curr Topics Vet Res*, 1, 63-82.
- Prescott JF, Menzies PI, Hwang YT, 2002. An interferon-gamma assay for diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in adult sheep from a research flock. *Vet Microbiol*, 88, 287-297.
- Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR, 1984. *Clinical veterinary microbiology*, Mosby International Ltd., Spain, pp: 118-345.
- Seyffert N, Guimaraes AS, Pacheco LGC, et al., 2010. High seroprevalence of caseous lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by *Corynebacterium pseudotuberculosis* secreted proteins-based ELISA. *Res Vet Sci*, 88, 50-55.
- Ter Laak EA, Bosch J, Bill GC, Schreuder BEC, 1992. Double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot analysis used for control of caseous lymphadenitis in goats and sheep. *Am J Vet Res*, 53, 1125-1132.
- Yeruham I, Elad D, Perl S, Ram A, 2003. Necrotic ulcerative dermatitis on the heels of heifers in a dairy herd infected with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Vet Rec*, 152, 598-600.
- Yeruham I, Elad D, van Ham M, Shpigel NY, Perl S, 1997. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in Israeli cattle: Clinical and epidemiological studies. *Vet Rec*, 140, 423-427.

