



Sivas Yöresinde Gözlenen Sığır Pnömoni Vakalarında *M. alkalescens*, *M. arginini*, *M. dispar*, *M. canis* ve *M. bovirhinis* Varlığının Araştırılması

Mahmut Moğulkoç^{1*}, Murat Yıldırım²

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji A.D. 58140 Kampüs, Sivas, Türkiye
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji A.D. 71450 Yahşihan, Kırıkkale, Türkiye

*Corresponding Author's E-Mail: mmoğulkoc@cumhuriyet.edu.tr

Özet

Sığır pnömoni vakalarında *M. bovis* bakteriyel etkenler arasında sıklıkla teşhis edilmektedir. Ancak Sivas bölgesinde *M. bovis* dışında *M. alkalescens*, *M. arginini*, *M. dispar*, *M. canis* ve *M. bovirhinis*'in varlığı hakkında bilgiye rastlanılmamıştır. Bu çalışmada Sivas bölgesindeki sığır pnömoni vakalarında *M. bovis* haricindeki diğer mikoplazma etkenlerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Sivas il merkezi mezbahalarında kesimi yapılmış sığırların akciğerleri pnömoni bulgularına göre incelenmiş ve toplamda 200 adet pnömonik akciğer örneği laboratuvarında kültürü yapılarak mikoplazma etkenleri yönünden değerlendirilmiştir. Mikoplazma şüpheli kültürler polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile incelendiğinde örneklerin %2.5'u *M. alkalescens*, %0.5'i *M. arginini*, %2'si *M. dispar* ve %1'i *M. bovirhinis* pozitif bulundu. *M. canis* ise tespit edilemedi. Sonuç olarak sığır pnömoni vakalarında bu mikoplazma türleri de teşhiste dikkate alınmalıdır.

Geliş Tarihi 04 Ocak 2019
Revizyondan geliş tarihi 28 Şubat 2019
Kabul Tarihi 01 Mart 2019

Anahtar Kelimeler:

Mikoplazma, PZR, sığır, pnömoni.

Cite this article: Moğulkoç M, Yıldırım M (2019) Sivas yöresinde gözlenen sığır pnömoni vakalarında *M. alkalescens*, *M. arginini*, *M. dispar*, *M. canis* ve *M. bovirhinis* varlığının araştırılması. Turk Vet J, 1:10-15.

Investigation of *M. alkalescens*, *M. arginini*, *M. dispar*, *M. canis* and *M. bovirhinis* on cattle pneumonia cases observed in Sivas region

Abstract

M. bovis is isolated frequently among bacterial agents in cattle pneumonia cases. However, there hasn't been any information about the presence of *M. alkalescens*, *M. arginini*, *M. dispar*, *M. canis* and *M. bovirhinis* agents outside of *M. bovis* in Sivas region. In the current study, it was aimed to detect other mycoplasma agents except *M. bovis* in cattle pneumonia cases. With this aim, slaughtered cattle lungs were examined in terms of pneumonia in Sivas city and a total of 200 pneumonic lungs were evaluated for mycoplasma agents by culture method. Mycoplasma suspected cultures were examined with PCR and *M. alkalescens*, *M. arginini*, *M. dispar* and *M. bovirhinis* detection rates were 2.5%, 1%, 4% and 2%, respectively. As a consequence, these mycoplasma species should be taken into consideration in bovine pneumonia cases

Key words: Mycoplasma, PCR, cattle, pneumonia

Giriş

Mikoplazma cinsi içerisindeki etkenler hücre duvarı olmayan, düşük G+C oranına (%23-40) ve küçük genom boyutuna sahip (0,58-1,4 Mbp) Moliküt sınıfında yer alırlar. Sığırlardan ilk izole edilen mikoplazma türü sığırların bulaşıcı plöropnömoni etkeni olan *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* 1898 yılında tanımlanmıştır (Nocard ve ark., 1990). Ondukozuncu yüzyılda global yayılmasından sonra sıkı politikalar sonucunda çoğu kitadan eradike edilen sığırların bulaşıcı plöropnömonisi sadece bazı Afrika ülkelerinde görülmektedir. Günümüzde *M. bovis* sığırlarda en önemli ve yaygın mikoplazma türü olarak kabul edilmektedir. *M. bovis* ilk 1961 yılında Amerika da bir sürüde hayvanların %30'unun etkilendiği mastitis vakasından izole edilmiştir (Hale ve ark., 1962).

Sığırlarda değişen oranda klinik öneme sahip diğer mikoplazma türleri ise *M. californicum*, *M. bovirhinis*, *M. bovoculi*, *M. leachii*, *M. dispar*, *M. canis*, *M. canadense*, *M. alkalescens*, *M. arginini* ve *M. wenyonii* dir. Moliküt sınıfının diğer bir üyesi olan *Acholeplasma* cinsi mikroorganizmalar Mikoplazma türleri ile birlikte sıklıkla izole edilirler fakat kontaminant olarak kabul edilirler ve sığırlarda minimal klinik öneme sahiptirler (Nicholas ve ark., 2008).

Mikoplazmalar sığırlarda mastitis, artrit, pnömoni, otitis media ve reproduktif vakalar gibi ciddi hastalık tablolarından izole edilmektedir. Mikoplazmaların çabuk yayılması, tedavisinin zor olması ve etkilenen

sürülerde sürüden çıkarılma durumu salgın vakalarının kontrolü ve önlenmesinde hızlı ve güvenilir teşhisi önemli hale getirmektedir (Parker ve ark., 2018).

Sığırlarda mikoplazmaların identifikasyonu ve tespiti altın standart yöntem olan kültür ile yapılmaktadır. Biosentezden sorumlu genlerin neredeyse tamamını kaybetmiş olmaları sebebiyle mikoplazmalar amino asit ve yağ asitleri sentezleyemezler. Bu sebeple mikoplazmaların üreyebileceği ortamlar etkene spesifik olmalı ve besiyeri sığır kalbi infüzyonu, serum, maya ekstraktı, pepton içermeli ve tampon pH'ı 7,3-7,8 aralığında olmalıdır (McVey ve ark., 2013). Mikoplazma türleri ve Acheloplazma ayrımı biyokimyasal testlerle yapılabilmektedir fakat biyokimyasal testlerin yorumlama kısmının subjektif olması hata yapabileceği olasılığını artırmaktadır. Günümüzde kültür pozitif izolatların PZR ile tür bazında tanımlanması yapılmaktadır (Parker ve ark., 2018).

Çeşitli örneklerden mikoplazma türlerinin tespit edilmesinde PZR'nin kullanılması, konvansiyonel kültür tabanlı diagnostik metotlarla karşılaştırıldığında daha verimli, sensitif ve spesifik olduğunu göstermiştir (Sachse ve ark., 1993). Prokaryotik ribozomlardaki 16S rRNA geni konservatif ve değişken bölgeleri kapsayan ufak alt ünitesi tür spesifik olması nedeniyle bakteri identifikasyonunda kullanılmaktadır. Konvansiyonel PZR metotlarının gelişmesiyle beraber 16S rRNA genleri amplifiye edilerek mikoplazmalar tür bazında moleküler metotlarla tanımlanmıştır (Chavez ve ark., 1995).

Kültür ve serolojik testlere bir alternatif olarak diagnostik amaçlı referans laboratuvarlara gönderilen örneklerden mikoplazma spesifik primerler ile 16S rRNA geni amplifikasyonu yapılarak amplikonlar denatüre edici gradient jel elektroforez yönteminde (DGGE) ayrılıp mikoplazmalar tespit edilebilmektedir (McAuliffe ve ark., 2005). Bu yöntemin mikoplazma enfeksiyonlarını tespit ve ayırma imkanı gibi avantajları bulunmaktadır. Günümüzde izolatların tiplendirilmesinde ise pulsed field jel elektroforez (PFGE), amplifiye fragman jel elektroforez (AFLP), çok lokuslu sekans tiplendirme (MLST) yöntemleri kullanılmaktadır (Parker ve ark., 2018).

Bu çalışmanın amacı sığır pnömonilerinde yaygın olarak izole edilen *M. bovis* haricindeki diğer mikoplazmaların rolünü belirlemektir.

Gereç ve Yöntemler

Örnek toplanması: Haftalık mezbaha ziyaretleri yapılarak kesimi yapılan sığırların akciğerleri pnömoni bulguları baz alınarak değerlendirildi. Pnömoni bulgusu saptanan akciğerlerin sağlam ve lezyonlu kısmın kesiştiği bölgeden steril kaplara örnekler alınarak soğuk

zincirde laboratuvara getirildi. Örnekler aynı gün içerisinde işlenerek etüve kaldırıldı. Çalışmada toplamda 200 pnömonik sığır akciğeri incelendi.

Kültür: Mikoplazma izolasyonu amacıyla laboratuvara ulaştırılan akciğerlerin yüzeyi spatül ile dağlandı ve bistüri ile kesit yapılarak akciğerlerin iç kısmına ulaşıldı. Örneklerden mycoplasma brotha ve agar ekimler yapıldı, brothlar 10⁻⁴'e kadar dilüe edildi. Örnekler üç hafta süreyle %5 CO₂'li etüvde 37°C'de inkübe edildi. Agarlar stereo mikroskopta incelenerek tipik mikoplazma kolonileri arandı. Brothlar ise türbidite yönünden değerlendirilerek en son türbidite gözlemlenen brothdan pasaj yapıldı. Agarda üreyen koloniler üç kez pasajlandı ve koloniler %50 mikoplazma broth %50 at serumlu steril tüplere alınarak -80°C derin dondurucuda muhafaza altına alındı.

DNA izolasyonu: Brothlardan 300µl alınarak ependorf tüplere aktarıldı ve tüplere 300µl K tamponu (20 mM Tris, 150 mM NaCl, 10 mM EDTA, %0,2 Sodyum Dodesil Sülfat-SDS) + 5 µl proteinaz K (20 mg/ml) ilave edildi. Örnekler 2 saat 56°C'de su banyosunda bekletildi ve Proteinaz K inaktivasyonu için 10 dakika süre ile kaynatıldı. Devamında tüplere 600 µl fenol-kloroform-izoamil ilave edildi ve Sambrook ve Russel (2001) metoduna göre fenol kloroform ekstraksiyonu uygulandı. Ekstraksiyon sonrasında tüplere 100 µl steril distile su eklenerek PZR'da kalıp olarak kullanılmaya hazır hale getirildi. Ekstraksiyonu yapılan örneklerin DNA kalitesi nanodrop cihazında 260/280 nm dalga boyunda (Denovix TS-11) değerlendirildi.

PZR: DNA izolasyonu yapılan örnekler ilk olarak Mikoplazma cins spesifik primer ile incelendi. Mikoplazma cins spesifik primer ile yapılan PZR sonucunda mikoplazma olduğu belirlenen örnekler sırasıyla Tablo 1'de belirtilen mikoplazma cins ve tür spesifik primer çiftleri ile araştırıldı.

Toplam 50 µl'lik hacimde hazırlanan PZR karışımına 5 µl 10X PZR buffer (750 mM Tris-HCl, pH 8,8, 200 mM (NH₄)₂SO₄, % 0,1 Tween 20), 5 µl 25 mM MgCl₂, her bir deoxynucleotide triphosphattan 250 µM, 1,25 U Taq DNA Polimeraz enzimi (MBI, Fermentas), tüm spesifik oligonükleotid primer çiftinin (Tablo 1) her birinden 20 pmol ve 5 µl hedef DNA ilave edildi. PZR aşamaları Biorad-T100 gradient termal siklus (Biorad, USA) cihazında gerçekleştirildi.

PZR amplifikasyonu her bir primer çiftine özgü ilgili kondüsyonlarda gerçekleştirildi. Amplifiye edilen PZR ürünleri %1,5'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutulduktan sonra jel ethidium bromide (10 mg/ml) ile 30 dakika süreyle boyandı ve sonuçlar jel dokümantasyon sisteminde (Quantum ST4, Vilber Lourmat) değerlendirildi.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan, mikoplazma cins ve tür spesifik primerler.

Etken	Primer dizilimi (5'-3')	Ürün	Kaynak
<i>Mycoplasma</i> spp.	F : GGCGAATGGGTGAGTAACACG R : CGGATAACGCTTGCGACCTATG	464 bp	(Wong-Lee ve ark, 1993)
<i>M. arginini</i>	F : GCATGGAATCGCATGATTCCT R : GGTGTTCTTCCTTATATCTACGC	545 bp	(Timenetsky ve ark, 2006)
<i>M. alkalescens</i>	F : GCTGTTATAGGGAAAGAAAACCT R : AGAGTCCTCGACATGACTCG	704 bp	(Kobayashi ve ark, 1998)
<i>M. canis</i>	F : TGATGATTAGCTGATAGTAGAACT R : GATTTGCTTGACGTCGCCGTT	434 bp	(Nicholas ve ark, 2008)
<i>M. dispar</i>	F : TTAAAGCTCCACCAAAAA R : GTATCTAAAGCGGACTAAA	433 bp	(Marques ve ark, 2007)
<i>M. bovirhinis</i>	F : GGCTGTGTGCCTAATACATGC R : CAGCGTGGACTACCAGGGTATC	358 bp	(Miles ve ark, 2004)

Bulgular

Elektroforez işlemi sonrasında agaroz jelde bantlar incelendiğinde kültürde mikoplazma şüpheli kabul edilen 20 adet izolatın hepsinin *Mycoplasma* spp. olduğu teyit edildi. Tür spesifik PZR işlemi neticesinde ise bu izolatların 5'i *M. alkalescens*, 1'i *M. arginini*, 4'ü *M. dispar*, 2'si *M. bovirhinis* olarak saptandı. *M. canis*'e ait spesifik 434 bp'lik ampikon ise tespit edilemedi. Etken izolasyon yüzdeleri Tablo-2'de belirtilmiştir.

Tablo 2. Akciğerlerden izole edilen Mikoplazma türleri ve yüzdeleri.

Etken	İzolot sayısı
<i>M. alkalescens</i>	5 (%2.5)
<i>M. arginini</i>	1 (%0.5)
<i>M. dispar</i>	4 (%2)
<i>M. bovirhinis</i>	2 (%1)
<i>M. canis</i>	-

Tartışma

Sığırlarda başlıca *M. bovis* olmak üzere 20'den fazla mikoplazma türü çeşitli klinik vakalardan izole edilmektedir (Nicholas, 2008).

M. dispar sağlıklı ve pnömoni şüpheli buzağuların akciğer ve burun boşluğundan izole edilen bir etkidir. Oldukça hassas olması sebebiyle in vitro kültürlerde

üretimi zordur ve yapılan araştırmalarda izolasyon oranı düşük çıkmaktadır. Deneysel olarak oluşturulan hastalık modelinde pnömoniye sebep olduğu saptanmış ve bazen mastit vakalarından rapor edilmiştir (Jasper, 1981).

M. dispar distal bronş ve bronşiyol hücrelerde siliostatik ve sitopatik etki gösterebileceği solunum sistemi epitelinde kolonize olarak etkenin trakebronşiyal kleransını ciddi derecede azaltmaktadır (Almeida & Rosenbusch, 1991). Sığır lenfositlerinin ve lökositlerinin mitojen cevabını immunsupresif etkilerle azalttığı in vivo çalışmalarda bildirilmiştir (Nicholas ve ark., 2002). Buzağularda solunum hastalıkları gelişimi üzerine yapılan bir araştırmada *M. dispar*'ın *P. multocida* invazyonuna öncülük etmede muhtemel rolü olabileceği bildirilmiştir (Virtala ve ark., 1996).

İngilterede pnömonik buzağularda *M. dispar* sıklıkla izole edilmektedir ve yetişkin sığırlarda ölümle karakterize "sığırların bulaşıcı plöropnömonisi" benzeri şiddetli plöropnömoni etkeni olduğu kabul edilmektedir (Ayling ve ark., 2004). Etkenin akciğerin kranioventral kısmında pembeden kırmızıya değişen tonda konsolidasyon meydana getirdiği bildirilmiştir (Ross, 1993). Etken Hollanda'da (Laak ve ark., 1992) 148 buzağuların pnömonik akciğerinden %92'sinden, Danimarka'da (Tegtmeier ve ark., 1999) ise fibrino nekrotize bronkopnömonili 31 akciğerin 13'ünden izole edilmiştir. Etkenin patojen kanıtları olmasına rağmen, kültürel karakteristiği nazlı olması nedeniyle saha şartlarında ihmal edilmekte veya değerlendirilememektedir (Thomas ve ark., 2002).

M. alkalescens diğer mikoplazma türleri gibi sığırların solunum sistemi mukozasında bulunmaktadır. *M. alkalescens* genelde artrit ve mastit vakalarından izole edilmekte, solunum sistemi enfeksiyonlarında ise nadiren bildirilmektedir (Kokotovic, 2007).

İngiltere’de 1990 ve 2000 yılları arasında sadece iki *M. alkalescens* izolasyonu rapor edilmiştir (Ayling ve ark., 2004). Sonraki yıllarda ise akciğer, eklem sıvısı, süt, fetal mide içeriği, göz, vajinal svab ve toraks sıvısı örneklerinden 2004’te 34, 2005’te 46 (Lawes ve ark., 2006) izolasyon yapılmıştır. İzolasyon artışı İngiltere’ye benzer şekilde Danimarka (Kokotovic ve ark., 2007) ve İsrail gibi ülkelerde (Lysnyansky ve ark., 2008) pnömonik buzağuların solunum sisteminden rapor edilmiştir. Akciğer örneklerinden *M. alkalescens* tespiti amacıyla yapılan immunohistokimyasal çalışmalar ile mikoplazma izolasyonu arasında uyum saptanmıştır. İmmuno-histokimyasal çalışmalarda *M. alkalescens* alveolar eksudatta ve makrofajların sitoplazmalarında tespit edilmiştir. *M. alkalescens*’in tek patojen olarak izole edilmesi, klinik örneklerdeki pnömonik lezyonlarda *M. alkalescens* antijen lokalizasyonu ile beraber hastalıkta rolü olduğu kanısını kuvvetlendirmektedir (Nicholas ve ark., 2008).

M. canis ilk olarak 1993 yılında Hollanda’da izole edilmiş ve ilerleyen yıllarda Kanada, Hollanda ve Belçika gibi diğer ülkelerden izolasyonu rapor edilmiştir (Nicholas ve ark., 1995). İzolasyon oranı giderek artış göstermiş 1999’da İngiltere’de 5 aydan küçük buzağuların pnömoni vakalarından 25 adet izole edilmiştir. Aerosol yolla *M. canis* inokülasyonu yapılan buzağulardaki deneysel enfeksiyon modelinde klinik pnömoni bulguları ve iki hafta içerisinde iki buzağıda ölüm şekillenmiştir (Nicholas ve ark., 2000). Postmortem muayenede tüm hayvanlarda pnömoni tablosu ile uyumlu akciğer lezyonları belirlenmiştir. Etken konjeste apikal ve median akciğer loblardaki karakteristik mikoplazma lezyonlarından izole edilmiştir (Nicholas ve ark., 2008).

Sığırlardan izole edilen *M. canis*’in, etkenin ilk izole edildiği hayvan türü olan köpeklerle yakın temasta olmalarından köken aldığı düşünülmektedir. Bununla beraber İngilterede *M. canis*’in geniş çaplı yayılması sığırlarda normal mycoplasma florasının bir parçası olduğu ve solunum sistemi vakalarında katkısı olduğu kanısını uyandırmaktadır (Nicholas ve ark., 2008).

M. bovirhinis 1967 yılında bir sığırın üst solunum yolundan izole edilmiştir (Leach, 1967). O yıldan beri sağlıklı ve hasta sığırların alt ve üst solunum yollarından izole edilmektedir. Etken *M. bovis* ve *M. dispar* gibi diğer patojenlerle beraber solunum sistemi vakalarını şiddetlendirmektedir. Etkenin solunum sisteminde hastalık oluşturma potansiyeli üzerine yeterli kanıt saptanamamış, fakat *M. bovis*, *M. haemolytica*, *P. multocida* ve *H. somni* veya viral patojenlerle beraber

solunum sistemi enfeksiyonları ile ilişkilendirilmiştir. Pnömonik buzağulardan alınan örnekler ile klinik bulgular meydana gelmeden önce yapılan örnekleme karşılaştırıldığında *M. bovirhinis* izolasyonunda artış tespit edilmiş ve etkenin solunum sistemi vakalarında fırsatçı patojen olabileceği öne sürülmüştür (Komoda ve ark., 1988).

M. arginini sığır, deve, koyun ve keçilerde pnömoni, keratokonjunktivitis, mastitis ve artritis vakalarından izole edilmiştir (Valsala ve ark., 2017). Pnömonik koyun akciğerlerinden izole edilen suşlar sağlıklı koyunlarla kıyaslandığında insidansın yüksek olması etkenin patojenik rolü olabileceği kanısını kuvvetlendirmektedir (Alley ve ark., 1975). Etkenin Mısır’da koyun ve sığırlarda balanopostitis ve granuler vulvovajinitis vakalarından izole edildiği bildirilmiştir (Zeftawi ve ark., 1981). Etken develerde yapılan bir çalışmada ise pnömonik akciğerlerden %8.8 oranında tespit edilmiştir (Elfaki ve ark., 2002). Hindistan’da *M. arginini* keçilerde keratokonjunktivitis vakalarından bildirilmiştir (Gupta ve ark., 2015). Etkenin bir başka çalışmada ise solunum sistemi problemi olan genç kuzularda ise *M. ovipneumoniae* ile birlikte izole edildiği rapor edilmiştir (Niang ve ark., 1999).

Mikoplazma türlerinde yapılan güncel çalışmalara bakıldığında Belçika’da nükseden solunum sistemi problemi olan 110 adet buzağıda yapılan çalışmada *M. dispar*, *M. canis*, *M. bovirhinis*, *M. arginini* ve *M. alkalescens* izolasyon oranı sırasıyla %45, %10, %40, %7 ve %2 tespit edilmiştir (Thomas ve ark., 2002). İngiltere’de 55 buzağı akciğer örneğinde gerçekleştirilen bir çalışmada *M. dispar*, *M. bovirhinis*, *M. arginini* ve *M. alkalescens* izolasyon oranı sırasıyla %1, %0, %1 ve %1 belirlenmiştir (Blackburn ve ark., 2010). Fransa’da yürütülen başka bir çalışmada ise çoğunluğu (%83’ü) solunum sistemi problemi olan sığırlardan izole edilen 1142 mikoplazma izolatında *M. canis*, *M. bovirhinis*, *M. arginini* ve *M. alkalescens* sırasıyla %0.17, %27, %14 ve %1.22 düzeyinde bulunmuştur (Chazel ve ark., 2010).

Türkiyede *M. bovis* haricindeki mikoplazma türlerinde az sayıda çalışma yapıldığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda ise Türkiye’nin yedi bölgesinden alınan numunelerde akciğerlerden %8.4 oranında *M. alkalescens*, %2.1 oranında *M. canis*, bronkoalveolar lavaj örneklerinden ise %4.4 düzeyinde *M. alkalescens* bildirilmiştir (Sayın ve ark., 2016). Kars’taki bir çalışmada ise 100 pnömonik sığır akciğeri örneklerinde %6 *M. dispar* ve %11 düzeyinde *M. bovirhinis* rapor edilmiştir (Özen ve ark., 2009). Etken izolasyon oranının düşük olması örnekleme yapılan besi sığırlarının hastalığa daha dirençli olması ile yorumlanmıştır. İstanbul’da gerçekleştirilen bir tez çalışmasında 200 akciğer örneğinde %0.94 düzeyinde *M. arginini* izolasyonu yapıldığı belirtilmiştir

(Türkyılmaz, 2014). Avrupada ve Türkiyede yapılan çalışmalar ile bu çalışmadaki izolasyon oranları farklılık göstermektedir. Bu çalışmada *M. alkalescens* %2.5, *M. arginini* %0.5, *M. dispar* %2 ve *M. bovirhinis* %1 oranında tespit edilmiştir. Elde edilen izolasyon frekansı sonuçlarının diğer çalışmalarla farklı olmasının hayvanların stres durumu, pnömoni şiddeti, pnömoni karakteri, koinfeksiyonlar ve örnek toplama metodu gibi farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç

Sonuç olarak PZR ve DGGE gibi moleküler metotların yaygınlaşmasına paralel olarak ülkemizde de farklı türde mikoplazmalar tespit edilebilmektedir. *M. bovis* sığırlarda en önemli mikoplazma türü olarak kabul görmektedir. Ancak diğer mikoplazma türleri göz ardı edilmemelidir. *M. bovis* haricindeki diğer mikoplazma türlerinin pnömonideki rolünün ortaya konulması adına daha kapsamlı mikrobiyolojik ve patolojik çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Tekrarlayan solunum sistemi problemleri tedavisinde makul terapötik strateji belirlemek adına diğer mikoplazma türleri de akla gelmelidir. Ayrıca buzağı pnömonilerinde kontrolü sağlamak amacıyla çevresel stresin azaltılması, hayvan başına yeterli olan minimal alan sağlanması, hava sirkülasyonunun iyi olması, yaşlı hayvanlarla genç olanların ayrılarak etkenle temasın minimize edilmesi gibi kriterlere dikkat edilmesi önerilmektedir.

Kaynaklar

Alley MR, Quinlan JR, Clarke JK (1975) The prevalence of *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Mycoplasma arginini* in the respiratory tract of sheep. *New Zeal Vet J* 23: 137-141.

Almeida RA, Rosenbusch RF (1991) Capsulelike surface material of *Mycoplasma dispar* induced by in vitro growth in culture with bovine cells is antigenically related to similar structures expressed in vivo. *Infect Immun* 59(9), 3119-3125.

Ayling RD, Bashiruddin SE, Nicholas RAJ (2004) *Mycoplasma* species and related organisms isolated from ruminants in Britain between 1990 and 2000. *The Vet Rec* 155(14): 413-416. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.155.14.413>

Blackburn P, McAuliffe L, Nicholas RAJ, Ball HJ (2010) Comparison of methods for detecting mycoplasmas in calf pneumonia cases. *The Vet Rec* 166(18): 561. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.b4833>

Chavez Gonzalez YR, Ros Bascunana C, Bolske G, Mattsson JG, Fernandez Molina C, Johansson KE (1995) In-vitro amplification of the 16s ribosomal-RNA genes from *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma agalactiae* by PCR. *Vet Microbiol* 47:183-190.

Chazel M, Tardy F, Grand D, Calavas D, Poumarat F (2010) Mycoplasmoses of ruminants in France: recent data from the national surveillance network. *BMC Vet Res* 6(1): 32. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-6-32>

Elfaki MG, Abbas B, Mahmoud OM, Kleven SH (2002) Isolation and characterization of *Mycoplasma arginini* from camels (*Camelus dromedarius*) with pneumonia. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 25: 49-57. [https://doi.org/10.1016/S0147-9571\(01\)00021-2](https://doi.org/10.1016/S0147-9571(01)00021-2)

Gupta S, Chahota R, Bhardwaj B, Malik P, Verma S, Sharma M (2015) Identification of Chlamydiae and *Mycoplasma* species in ruminants with ocular infections. *Lett Appl Microbiol* 60: 135-139. <https://doi.org/10.1111/lam.12362>

Hale HH, Helmboldt CF, Plastring WN, Stula EF (1962) Bovine mastitis caused by *Mycoplasma* species. *Cornell Vet* 52:582-591.

Jasper DE (1981) Bovine mycoplasmal mastitis. *Adv Vet Sci Comp Med* 25: 121-57

Kobayashi H, Hirose K, Worarach A, Paugtes P, Ito N, Morozumi T, Yamamoto K (1998) In vitro amplification of the 16S rRNA genes from *Mycoplasma bovirhinis*, *Mycoplasma alkalescens* and *Mycoplasma bovigenitalium* by PCR. *J Vet Sci* 60 (12):1299-1303. <https://doi.org/10.1292/jvms.60.1299>

Kokotovic B, Friis NF, Ahrens P (2007) *Mycoplasma alkalescens* demonstrated in bronchoalveolar lavage of cattle in Denmark. *Acta Vet Scand* 49(1):2. <https://dx.doi.org/10.1186/2F1751-0147-49-2>

Komoda M, Kozai Y, Itoi H, Noro A, Yamada T, Kimura Y, Koizumi S (1988) Outbreak of shipping fever associated with several pathogens in grazing calves. *JMVA* 41(6): 408-411.

Lawes JR, Bisgaard-frantzen S, Bashiruddin SE, McAuliffe L, Ayling RD, Nicholas RAJ (2006) Emergence of *M. alkalescens* in cattle in the UK. 16th international congress International Organisation for Mycoplasmaology. Cambridge, UK. 2006. pp. 129.

Lysnyansky I, Levisohn S, Perl S, Malone F, Ball HJ (2008) Immunohistochemical detection of *Mycoplasma alkalescens* in naturally infected calves. Proceedings of the 17th International Congress of the International Organisation for Mycoplasmaology, Tianjin, China.

Marques LM, Buzinhani M, Yamaguti M, Oliveira RC, Ferreira JB, Mettifogo E, Timenetsky J (2007) Use of a polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma dispar* in the nasal mucus of calves. *J Vet Diagn Invest* 19(1): 103-106. <https://doi.org/10.1177/104063870701900118>

Maunsell FP, Donovan GA (2009) *Mycoplasma bovis* infections in young calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 25(1): 139-177. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.011>

McAuliffe L, Ellis RJ, Lawes JR, Ayling RD, Nicholas RA (2005) 16S rDNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis; a single generic test for detecting and differentiating *Mycoplasma* species. *J Med Microbiol* 54:731-739. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.46058-0>

McVey DS, Kennedy M, Chengappa MM (2013) *Veterinary Microbiology* 3rd ed. Hoboken: Wiley.

- Miles K, McAuliffe L, Ayling RD, Nicholas RA (2004)** Rapid detection of *Mycoplasma dispar* and *M. bovirhinis* using allele specific polymerase chain reaction protocols. *FEMS Microbiol Lett* 241(1): 103-107. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.10.010>
- Niang M, Rosenbusch RF, Lopez-Virella J, Kaeberle ML (1999)** Differential serologic response to *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Mycoplasma arginini* in lambs affected with chronic respiratory disease. *J Vet Diagn Invest* 11: 34-40. <https://dx.doi.org/10.1177/104063879901100105>
- Nicholas RA, Hannam DA, Baker SE, Weaver CR (1995)** *Mycoplasma canis* in a British calf. *The Vet Rec* 137(17): 443-444. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.137.17.443>
- Nicholas R, Baker S, Ayling R, Stipkovits L (2000)** *Mycoplasma* infections in growing cattle. *Cattle Pract* 8(2): 115-118.
- Nicholas RA, Ayling RD, Stipkovits LP (2002)** An experimental vaccine for calf pneumonia caused by *Mycoplasma bovis*: clinical, cultural, serological and pathological findings. *Vaccine* 20(29-30), 3569-3575. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(02\)00340-7](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(02)00340-7)
- Nicholas R, Ayling R, McAuliffe L (2008)** *Mycoplasma* diseases of ruminants. CABI
- Nocard M, Roux M, Borrel M, Salimbeniet B (1990)** The Microbe of Pleuropneumonia. *Rev Infect Dis* 12:354-358.
- Ozen H, Karaman M, Sahin M, Ozcan K (2009)** Pnömonili Sığırlarda *Mycoplasma bovis*, *M. dispar*, *M. bovirhinis* ve *M. mycoides* subsp. *mycoides* (küçük koloni tipi)'in PZR ile belirlenerek patolojik bulguların incelenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 15(1): 125-133. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2008.108-A>
- Parker A, Sheehy P, Hazelton M, Bosward K, House J (2018)** A review of mycoplasma diagnostics in cattle. *J Vet Intern Med* 32(3):1241-1252. <https://doi.org/10.1111/jvim.15135>
- Ross RF (1993)** *Mycoplasma*-animal pathogens. In *Rapid diagnosis of mycoplasmas* (pp. 69-109). Springer, Boston, MA.
- Sachse K, Pfutzner H, Hotzel H, Demuth B, Heller M, Berthold E (1993)** Comparison of various diagnostic methods for the detection of *Mycoplasma bovis*. *Rev Sci Tech* 12:571–580.
- Sambrook J, Russell DW (2006)** Purification of nucleic acids by extraction with phenol:chloroform. *CSH Protoc* 356-359. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot093450>
- Sayin Z, Sakmanoğlu A, Ucan US, Uslu A, Hadimli HH, Aras Z, Erganiş O (2016)** *Mycoplasma* infections in dairy cattle farms in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 40(5): 569-574. <https://doi.org/10.3906/vet-1602-82>
- Tegtmeier C, Uttenthal AA, Friis NF, Jensen NE, Jensen HE (1999)** Pathological and microbiological studies on pneumonic lungs from Danish calves. *J Vet Med Series B*, 46:693-700. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.1999.00301.x>
- Timenetsky J, Santos LM, Buzinhan M, Mettifogo E (2006)** Detection of multiple mycoplasma infection in cell cultures by PCR. *Braz J Med Biol Res* 39(7): 907-914. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006000700009>
- Thomas A, Dizier I, Trolin A, Mainil J, Linden A, Ball H, Bell C (2002)** Isolation of mycoplasma species from the lower respiratory tract of healthy cattle and cattle with respiratory disease in Belgium. *Vet Rec*, 151(16): 472-476. <https://dx.doi.org/10.1136/vr.151.16.472>
- Virtala AM, Mechor GD, Gröhn YT, Erb HN, Dubovi EJ (1996)** Epidemiologic and pathologic characteristics of respiratory tract disease in dairy heifers during the first three months of life. *J Am Vet Med Assoc* 208(12): 2035-2042.
- Valsala R, Rana R, Remesh AT, Singh V P (2017)** *Mycoplasma arginini*: high frequency involvement in goat pneumonia. *Turk J Vet Anim Sci* 41(3), 393-399.
- Wong-Lee J G, & Lovett M (1993)** *Diagnostic Molecular and Microbiology Principles and Applications*. American Society for Microbiology, Washington DC
- Zeftawi NW, Ahmed AA, Sabry MZ (1981)** Isolation of *Mycoplasma arginini* from granular vulvovaginitis (GVV) in cattle and sheep . In *Abstracts 2nd African Veterinary Medical Congress*. Cairo, Egypt, 21-26 March, 120