



Koyunlarda Kazeöz Lenfadenitisin Moleküler ve ELISA Yöntemiyle Karşılaştırmalı Teşhisi

Ayşe EKİNCİ YILDIZ^{1a,✉}, Hasan İÇEN^{1,b}

¹Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0003-4590-8218; ^bORCID: 0000-0002-6034-3203

Geliş Tarihi/Received
21.10.2022

Kabul Tarihi/Accepted
20.12.2022

Yayın Tarihi/Published
31.12.2022

Öz

Bu çalışmada; Diyarbakır yöresindeki koyunlarda Kazeöz Lenfadenitis'in (KLA) etiyolojik ajanı olan *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. pseudotuberculosis*)'in bakteriyolojik kültür, PCR ve ELISA teknikleri kullanılarak tanısının ortaya konulması, izolasyon bulguları ile testlerin özgüllük ve duyarlılıklarının belirlenmesi ve böylece hastalığın rutin teşhisinde kullanılabilirliklerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmanın materyalini Diyarbakır'ın farklı bölgelerinde olmak üzere 11 ayrı sürüden toplamda 2650 adet Akkaraman koyun oluşturdu. Sağlık taramasından geçirilen koyunların içinden 90 adet KLA semptomları gösteren ve yüzeysel lenf yumrularından bir veya birkaç tanesi birden apseleşmiş hasta koyunlar tespit edilerek çalışmaya dahil edildi. Kan örnekleri ve apse içeriğinden swap örnekleri alındı. Etkenin tanısı için, swap örneklerinden bakteriyolojik kültür ve PCR analizleri, kan örneklerinden ise ELISA analizleri yapıldı. Diyarbakır yöresindeki koyunlarda PCR analizlerine göre 26 (%28.9) pozitif, 64 (%71.1) negatif, ELISA analizinde 17 (%18.9) pozitif, 73 (%81.1) negatif ve bakteriyolojik kültürde 12 (%13.3)'sinde *C. pseudotuberculosis*, 16'sından *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), 8'inde *Streptococ spp.* ve 6'sında *Escherichia coli* (*E. coli*) kolonileri izole edilirken 48 (%53.3) kültürde hiç üreme olmadığı görüldü. PCR, ELISA ve bakteriyolojik kültür sonuçları karşılaştırıldığında PCR'in daha belirleyici bir tanı testi olduğu görüldü ($p<0.000$). İzolasyon sonuçları dikkate alındığında KLA'nın tanısında PCR'in ELISA'ya oranla duyarlılığı %100, özgüllüğü ise %65 olarak tespit edildi. Sonuç olarak KLA'nın bölge koyunlarında görüldüğü ve bu nedenle bölgede bu hastalığın önlenmesi için kontrol ve eradikasyon çalışmalarının yapılması gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, Kazeöz Lenfadenitis, Koyun, PCR

Comparative Diagnosis of Caseous Lymphadenitis in Sheep by Molecular and ELISA Method

Abstract

In this study; It is aimed to reveal the diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. pseudotuberculosis*), which is the etiological agent of Caseous Lymphadenitis (CLA), in sheep in the Diyarbakir region using bacteriological culture, PCR and ELISA techniques, to determine the specificity and sensitivity of the tests with isolation findings, and thus to demonstrate their usability in the routine diagnosis of the disease. The material of the study consisted of 2650 Akkaraman sheep from 11 different herds in different regions of Diyarbakir. Among the sheep undergoing health screening, 90 sick sheep with CLA symptoms and one or more of the superficial lymph nodes with abscess were identified and included in the study. Blood samples and swap samples were taken from the abscess contents. Bacteriological culture and PCR analyzes were performed on swap samples and ELISA analyzes were performed on blood samples for the diagnosis of the causative agent. According to PCR analysis, 26 (28.9%) positive, 64 (71.1%) negative, 17 (18.9%) positive ELISA analysis, 73 (81.1%) negative, and 12 (13.3%) bacteriological cultures were found in sheep in Diyarbakir region. While *C. pseudotuberculosis* was isolated in 12, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) in 16, *Streptococ spp* in 8, and *Escherichia coli* (*E. coli*) in 6, no growth was observed in 48 (53.3%) cultures appeared not to be. When PCR, ELISA and bacteriological culture results were compared, PCR was found to be a more definitive diagnostic test ($p<0.000$). Considering the isolation results, the sensitivity of PCR compared to ELISA was 100% and the specificity was 65%. As a result, it was concluded that CLA is seen in the sheep of the region and therefore, control and eradication studies should be carried out in order to prevent this disease in the region.

Key Words: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, Caseous Lymphadenitis, Sheep, PCR

GİRİŞ

Kazeöz lenfadenitis (KLA), *C. pseudotuberculosis* tarafından meydana getirilen çok sayıda memeli türünü özellikle küçük ruminantları etkileyen ve dünya genelinde yaygın olarak görülen, lenf yumrularında piyogranülomlu apselerin gelişmesiyle karakterize kronik ve zoonoz bir hastalıktır (1-4). KLA,

döl veriminin düşmesine, deri ve yapağı kalitesinin bozulmasına, et ve süt veriminde azalmaya ayrıca pnömoni, mastitis, artritis ve orşitise neden olmaktadır (3,5,6). Etkenin, koyun ve keçiler başta olmak üzere; sığır, manda, at, geyik, domuz, kirpi, lama, deve, alpaka, laboratuvar hayvanları ve insanlardan da izole edildiği bildirilmektedir (1,5-7).

C. pseudotuberculosis, Gram pozitif, pleomorfik, kapsülsüz, hareketsiz, sporsuz, fakültatif anaerobik ve hücre içi bir bakteridir (5,8). Hücre duvarı peptidoglikan, mezodiaminopimelik asit (mezo-DAP) arabinoz ve galaktoz şekerlerinden oluşmaktadır (3). Bulaşma, klinik veya subklinik olarak enfekte taşıyıcı hayvanların hastalık olmayan sürülere katılmasıyla birlikte enfekte hayvanların burun salgıları, dışkıları ve apselerinden akan irinin, ortamda bulunan yemlikleri, suyu ve otlakları kontamine etmesi sonucu olduğu ifade edilmektedir (6,7). Ayrıca çiftlik çalışanlarının kullandıkları kırkım makinası, kulak küpeleme pensleri ve kastrasyon alet ekipmanları ve damgalama işlemleri ile aynı sürü içindeki hayvanlar arasında etkenin bulaşmasında önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (9). Koyunlarda KLA, genellikle yara enfeksiyonu ile başlar daha sonra lenfatik ve hematojen yolla yayılma gösterir. Etken serbestçe veya makrofajlar içinde, lenfatik sistem yoluyla lokal lenf düğümlerine girer, oradan da iç organlara yayılır (2,5,10). Klinik olarak iki farklı formda görülen KLA; eksternal formda yüzeysel lenf yumrularında, internal formda ise iç organlar ile bunlara ait lenf yumrularında pyogranülomlu apselerin oluşmasına neden olmaktadır (5,6).

C. pseudotuberculosis, fagositozdan canlı kurtulma ve diğer bölgelere yayılma yeteneğini arttıran Fosfolipaz D ve mikolik asit virülans faktörlerine sahiptir (1-7,8). *C. pseudotuberculosis*; sahip olduğu Fosfolipaz D (PLD) ve mikolik asit sayesinde immün sistem hücreleri tarafından yok edilemediğinden antibiyotik tedavilerinden yeterli başarı sağlanamamaktadır. Hastalığın subklinik seyretmesi nedeniyle profilaktik ve terapötik tedavinin sürüleri hastalıktan tam olarak korumadığı, enfekte hayvanların rezervuar görevi gördüğü ve bu durumun hastalık prevalansında sürekli bir artışa neden olduğu bildirilmektedir (3,8,10,11).

Bu çalışma; Diyarbakır yöresindeki koyunlarda KLA'nin etiyolojik ajanı olan *C. pseudotuberculosis*'in bakteriyolojik kültür, PCR ve ELISA teknikleri kullanılarak yaygınlığının ortaya konulmasının yanı sıra, serolojik ve moleküler yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Hayvan Materyali

Bu çalışmanın hayvan materyalini belirlemek için Diyarbakır ilinin farklı lokasyonlarında yetiştirilen 11 farklı sürüde toplam 2650 Akkaraman koyunu sağlık taramasından geçirildi. Tarama sonucunda KLA semptomları gösteren ve klinik muayene sırasında parotis, retrofarengeal, submandibular ve presupkapular lenf yumrularından bir veya birkaçı apseleşmiş olduğu tespit edilen toplam 90 koyun çalışmanın hayvan materyalini oluşturdu.

Kan Örneklerin Alınması

Farklı yaş ve cinsiyetteki 90 koyunun jugular veninden vacutainer ile steril tek kullanımlık iğne ucu kullanılarak 9 ml antikoagülsüz biyokimya tüplerine kan örnekleri alındı. Örneklerin oda sıcaklığında pıhtılaşmaları beklendikten sonra 3000 devir/dakikada 10 dakika santrüfuj edildi. Elde edilen serumlar 1,5 ml'lik ependorf tüplerine alınarak analizleri yapıncaya kadar -20 °C de saklandı.

Swap Örneklerinin Alınması

Tüm örnekler tam aseptik koşullar altında alındı. Kapalı apselere traş edildikten sonra %70'lik alkol ile temizlendi. Tek kullanımlık bistüri ile apsenin en uygun yerine kesi atılarak apse açıldı ve yine tek kullanımlık steril transport mediumlu swaplar ile apse içeriğinden irin örneği alındı. Soğuk zincirde laboratuvara ulaştırılan swap örnekleri kullanılıncaya kadar -60 °C'de saklandı.

Bakteriyolojik İdentifikasyon

C. pseudotuberculosis'in izolasyonu için KLA şüpheli hayvanların apseleşmiş lenf düğümlerinden alınan steril tek kullanımlık swap örnekleri ile aynı gün %7 defibrine koyun kanlı agar içeren petrilere ekimler yapıldı. Ekim sonrası petrilere 37°C de aerobik ve mikroaerofilik koşullarda 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası petrilere incelenerek zayıf bir hemoliz bölgesi ile çevrili küçük, nokta çapında, beyazımsı, opak koloniler *C. pseudotuberculosis* şüpheli olarak değerlendirildi. Alevde öze yardımıyla alınan bakteriler fizyolojik su ile sulandırılarak lam üzerinde yayma işlemi yapıldı. Hazırlanan preparat kuruduktan sonra Gram boyamaya tabi tutuldu. Işık mikroskopunda incelenen preparatlarda Gram (+) X, Y formunda görülen etkenler *Corynebacterium* spp. kabul edilerek VITEC II otomatik bakteri tanımlama cihazında Gram (+) anaerobcard ile identifikasyonu gerçekleştirildi.

ELISA

Serum PLD seviyesi analizleri için ticari ELISA kiti Sheep Phospholipase D1 ELISA Kit (MyBioSource, ABD Inc.) kullanılarak belirlendi. Test kit üreticisinin önerdiği protokole göre gerçekleştirildi.

DNA izolasyonu

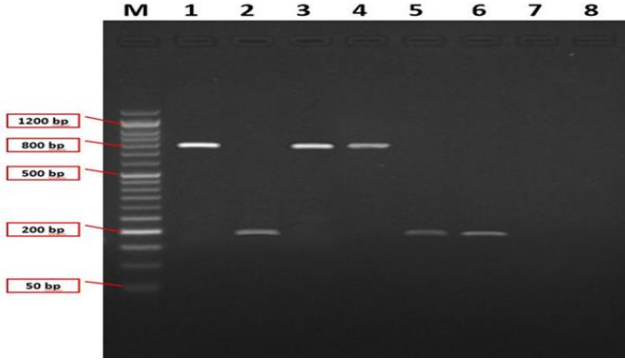
Çalışmada 90 adet irin örneği kullanıldı. Apse içeriğinden alınan swap örneklerinden DNA eldesi için, DNA izolasyon kiti (One-4-All Genomic DNA1 Mini-PREPS Kit BioBasic Canada Inc) kullanıldı. Elde edilen DNA'lar PCR çalışmalarında kullanılıncaya kadar -20 oC 'de muhafaza edildi.

PCR yöntemi ile alt tiplerin tespiti

İzole edilen bütün örnekler *C. pseudotuberculosis* genel primeri ve PLD bölgesinin tespit eden primerler ile çalışıldı. PLD genini kodlayan ve 203 bç'lik bir DNA fragmanını amplifiye eden F (5'ATAAGCGTAAGCAGGGAGCA-3') ve R (5' AT-CAGCGGTGATTGTCTTCC-3') primerler ve 816 bç'lik genel primerleri kodlayan gen bölgesi primerleri F (5'ACCGCACTTGTAGTGTGTG-3') ve R (5'TCTCTACGCCGATCTGTAT-3') kullanıldı. *C. pseudotuberculosis* genel ve PLD gen bölgesi tespitinde kullanılan primerlerin bağlanma derecelerini belirlemek için gradient yapıldı ve PCR protokolü oluşturuldu. PCR ısı döngüleri 94°C'de 5 dakika ön denatürasyon, 35 döngüde 94°C'de 45 saniye, 57°C'de 45 saniye, 72°C'de 1 dakika ve 72°C'de 7 dakika son uzama basamağı şeklinde uygulandı. DNA eldesinin kontrolü amacıyla *C. pseudotuberculosis* genel primerleri ile amplifikasyon yapıp DNA varlığı kontrol edildi.

Elektroforez

Elde edilen PCR ürünleri, etidyum bromür içeren %1.5 agaroz jel içinde elektroforeze tabi tutulduktan sonra translüminatöre aktarıldı. Translüminatörde, DNA'ların ağırlıklarına göre oluşturduğu bantlar UV ışığı altında incelendi. İşlem sonucunda 816 ve 287 bç'lik DNA bandı elde edilen örnekler pozitif kabul edildi (Şekil 1).



Şekil 1. *C. pseudotuberculosis* amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel görüntüsü

M:50-bç'lik DNA standardı. Şerit 1: Kontrol grubu genel primerleri: 816 bç, şerit 2'deki kontrol grubu PLD: 203 bç, Şerit 3,4: Hasta grubu genel primerleri, Şerit 5,6: Hasta grubu PLD, Şerit 7,8: Negatif kontrol grubu

İstatiksel Analiz

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 for windows istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenler ortalama \pm standart sapma (SD) ile kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%) ile sunuldu. Koyunlarda KLA varlığını ortaya koymak için kullanılan bakteriyolojik kültür, ELISA ve PCR test sonuçları Cochran's -Q testi kullanılarak karşılaştırıldı. Anlamlı sınır değerleri için sensitivite ve spesifite hesaplandı. Hipotezler çift yönlü alınarak, $p \leq 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi.

BULGULAR

Klinik Muayene Bulguları

Araştırmanın materyalini oluşturan hastaların klinik muayenesinde tüm koyunların lenf yumruları muayene edildi. Palpe edilen parotis, retrofarengeal, submandibular ve preskapular lenf yumrularının ayrı ayrı tek başına ya da beraber apse formunda olduğu tespit edildi. Büyümüş genişlemiş lenf yumrularının kıvamı sert ya da yumuşaktı ve palpasyonda ağrı bulgusuna rastlanmadı. Bazı apselerin üzerindeki deride bulunan yünlerin döküldüğü bazı apselerinde doku bütünlüğünün bozulduğu ve dışarıya doğru fistülleşmiş olduğu tespit edildi (Şekil 2). Apse içerisindeki irinin kokusuz, renginin kremi ile yeşilimsi ve kıvamının sulu veya katı olduğu görüldü (Şekil 3). KLA'nın kronik olması ve subklinik seyretmesi nedeniyle yapılan temperatür, nabız ve solunum muayene bulguları referans aralıkları içerisinde olduğu tespit edildi. Bu nedenle istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Akciğer oskültasyonunda herhangi bir patolojik ses alınmadı. Sistemik bir enfeksiyon belirtileri gözlemlenmedi. Muayene edilen lenf yumruları sayı ve yüzde olarak Tablo 1'de sunulmuştur.



Şekil 2. Açılmış parotis lenf yumrusu ve kapalı preskapular lenf yumrusunu birlikte gösteren KLA ile enfekte koyun



Şekil 3: Etkilenmiş kapalı parotis lenf yumrusunu gösteren KLA ile enfekte koyun

Tablo 1. Muayene edilen 90 koyunda KLA lezyonlarının dağılımı

Lenf Yumrusu	Sayı	Oranı (%)
Parotis	38	42.2
Submandibular	18	20.0
Retrofarengeal	8	8.8
Preskapular	2	2.2
Parotis+Submandibular	15	16.6
Preskapular +Parotis	1	1.1
Retrofarengeal +Parotis	8	8.8
Toplam	90	

Bakteriyolojik Bulgular

KLA semptomları gösteren 90 koyunda apseleşmiş lenf düğümleri içeriğinden swabla alınan irin örnekleriyle bakteriyolojik kültürde ekim yapıldı. Bakteriyolojik kültür sonucunda koyunların 12 (%13.3)'sinde *C. pseudotuberculosis*, 16 (%17.7)'sında *S. aureus*, 8 (%8.8)'inde *Streptococ spp.* ve 6 (%6.6)'sında *E. coli* kolonileri izole edildi. 12 örnekten 11'inin ELISA ve PCR bulgularıyla uyumlu olduğu 1 örneğin ise sadece PCR analizi ile uyumlu olduğu tespit edildi.

ELISA Bulguları

ELISA analizlerinde KLA semptomlu koyunların 17'sinin (%18.9) KLA yönünden pozitif olduğu tespit edildi. 17 örnekten 11'i kültür ve PCR analizleriyle uyumlu bulunurken 6'sının sadece PCR analiziyle uyumlu olduğu görüldü.

PCR Bulguları

PCR analizleri sonucunda KLA semptomlu koyunların 26'sının (%28.9) KLA yönünden pozitif olduğu tespit edildi. 26 örnekten 11'i kültür ve ELISA analizleri ile 6'sı sadece ELISA ile ve 1'i sadece kültür ile uyumlu bulunurken, 8'i ise sadece PCR pozitif bulundu. KLA amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel görüntüleri Şekil 1'de sunulmuştur.

Bu çalışmada PCR testi, ELISA testi ve bakteriyolojik kültür analizi kullanılarak toplam 90 koyun test edildi. PCR kullanılarak 90 örnekten 26 pozitif, ELISA testi ile 17 ve bakteriyolojik kültür ile 12 pozitif koyun tespit edildi. Her üç tanı yöntemi beraber karşılaştırıldığında PCR testi diğer tanı yöntemlerine oranla istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). ELISA ve bakteriyolojik kültür sonuçları arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadığı görüldü ($p > 0.005$) (Tablo 2). PCR testi ile ELISA ve bakteriyolojik kültür sonuçları karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak PCR'in KLA tanısında daha duyarlı olduğu tespit edildi (Tablo 3).

Tablo 2. PCR, ELISA ve Bakteriyolojik Kültür testlerinin karşılaştırmalı p değeri

Test	Pozitif	Negatif	P	p1	p2	p3
PCR	26 (%28.9)	64 (%71.1)				
ELISA	17 (%18.9)	73 (%81.1)	0.000	0.013	0.000	0.342
Kültür	12 (%13.3)	78 (%86.7)				

p: PCR x ELISA x Kültür p1: PCR x ELISA, p2: PCR x Kültür, p3: ELISA x Kültür

Tablo 3. PCR, ELISA ve Bakteriyolojik Kültür testlerinin karşılaştırmalı sensitivite ve spesivite oranları

Test	Duyarlılık	Özgüllük
PCR x ELISA	%100	%65
PCR x Kültür	%100	%46
ELISA x Kültür	%98	%64

TARTIŞMA VE SONUÇ

KLA, koyun ve keçileri etkileyen ve önemli ekonomik kayıplara neden olan, yüzeysel ve visseral lenf yumrularında granülomatöz lezyonlarla karakterize kronik ve zoonoz bir hastalıktır (3,12).

KLA, dünya genelinde Avrupa, Avustralya, Amerika ve Orta Doğu'da yaygın olduğu bildirilmektedir (5,10,13-15). Ayrıca Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda KLA enfeksiyonunun koyun sürülerinde görüldüğü ifade edilmiştir (2,12,16-18).

Dünyanın farklı ülkelerinde adı geçen hastalıkla ilgili ELISA yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda Brezilya'da %78.9-%93.35 (19-21), Portekiz'de %34 (22), Mısır'da %83.6 (15) olduğu bildirilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda Ürdün'de %15.3 (14), Hindistan'da %2.31-%4.38 (23,24), Venezuela'da %8 (25), Mısır'da %6.75 (26) ve Brezilya'da %43.7 (27) olduğu bildirilmiştir. Türkiye'de ELISA yöntemiyle Kayseri'de gerçekleştirilen bir çalışmada %36.4 prevalans bildirilmiştir (17). Bu çalışmada ELISA yöntemiyle %18.9 oranında prevalans tespit edilmiştir. Elde edilen bu so-

nuç bazı araştırmacıların (15,19-22) sonuçlarından düşük olduğu görülürken, Al-Rawashdeh ve ark. (14) bulgularıyla yakın oranlarda olduğu tespit edilmiştir. ELISA sonuçlarındaki bu farklılığın nedeninin KLA prevalansı yüksek ülkelerde hayvan sağlığı politikalarındaki yetersizliklere ve küçük ruminant yetiştiricilerinin KLA'ya karşı profilaktik önlemleri almamasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında KLA'ya karşı koyunlarda bağışıklık sisteminin henüz antikor oluşturacak düzeye gelmemesinden dolayı ELISA negatif oranının düşük olabileceği tahmin edilmektedir.

PCR yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda; Portekiz'de %17.24 (28), Brezilya'da %54 (29), Kore'de %7.3 (30) prevalans bildirilmiştir. Bu çalışmada PCR yöntemiyle %28.9 prevalans tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuç Nassar ve ark. (29) tarafından yapılan çalışmanın bulgularından düşük tespit edilirken diğer araştırmacıların (28,30) bulgularından yüksek tespit edilmiştir.

Mısır'da gerçekleştirilen bir çalışmada KLA prevalansını %3.71 olarak tespit edilmiş ve lenf nodu lezyonlarının dağılımı parotis %44.19, submandibular %37.98, preskapular %13.96 ve prefemoral %3.87 olduğu bildirilmiştir (15). Kore'de gerçekleştirilen bir çalışmada KLA prevalansı %7.3 olarak bildirilmiştir. En çok parotis, submandibular ve servikal lenf düğümlerinin etkilendiği ifade edilmiştir (30). Türkiye'de Elazığ'da gerçekleştirilen bir çalışmada KLA prevalansının %3.5 bulunduğu bildirilmiştir ve en çok preskapular lenf yumrusunun etkilendiği tespit edilmiştir (16). Bu çalışmada da araştırmacıların (21,30) bildirdikleriyle uyumlu olarak en fazla parotis (%42) ve submandibular (%20) lenf yumruları etkilendiği görülmüştür. Parotis ve submandibular lenf yumrusunun fazla görülmesinin nedeni baş bölgesindeki yara veya sıyrıkların hastalığın bulaşmasına neden olduğu düşünülmektedir.

İran'da yapılan bir çalışmada bakteriyolojik kültür sonucunu %12.60 *C. pseudotuberculosis*, %2.56 *S. aureus*, ve %0.85 *Bacillus sp.* tespit edildiği bildirilmiştir (31). Cezayir'de gerçekleştirilen bir çalışmada *C. pseudotuberculosis* (%53.6), *S. aureus*, (%43) ve *E.coli* (%17.9) tespit edilmiştir (32). Aydın'da ise *C. pseudotuberculosis* (%17), *Staphylococcus spp.* (%22), *Streptococcus spp.* (%20), *Bacillus sp.* (%16) ve *Pasteurella spp.* (%13) izole edildiği bildirilmiştir (33). Bu çalışma sonucunda bakteriyolojik kültürde *C. pseudotuberculosis* (%13.3) izolasyonuna ek olarak *S. aureus*, (%17.7), *Streptococcus spp.* (%8.8) ve *E.coli* (%6.6) izole edilmiştir. Tespit edilen oranların farklılığının nedenleri arasında bakteri izolasyonunun apse merkezinin neredeyse steril olmasına, bakterinin lezyonlar içindeki dağılımına, enfeksiyonun aşamasına, hayvanın bağışıklık durumuna, antimikrobiyal tedaviye ve diğer bakteriyel ajanların ortamdaki varlığı olarak sayılabilir.

PCR, ELISA ve bakteriyolojik kültür sonuçları karşılaştırıldığında PCR ile pozitif hasta sayısının daha fazla saptandığı görülmüştür. PCR testinin ELISA testi ile karşılaştırıldığında sensitivite %100 spesivite %65 olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak; Diyarbakır bölgesinde KLA enfeksiyonunun yaygın olarak görüldüğü tespit edildi. Türkiye'de KLA bildirimi zorunlu bir hastalık olmadığı için hayvan sahipleri tarafından önemsenmemektedir. Hayvan yetiştiricilerinin yüzeysel apseler için sadece semptomatik tedaviye yönelmeleri ve yeterli profilaktik önlemleri almamaları nedeniyle hastalık

yaygınlığını korumaya devam etmektedir. Hastalığın sürülere bulaşma riskini azaltacak en güvenilir profilaktik yöntem, enfekte hayvanların belirlenip sürüden uzaklaştırılması ve sağlıklı hayvanların aşılanması ile hastalığın prevalansının azaltılabileceği kanaatine varıldı.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya maddi destek sağlayan Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (VETERİNER.19.012 nolu proje), PCR analizlerindeki katkılarından dolayı Dr. Fatih ÇAKIR'a ve ELISA analizlerindeki katkılarından dolayı Dr. Nurettin IŞIK'a teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

1. Fontaine MC, Baird GJ. (2008). Caseous Lymphadenitis. *Small Rumin Res.* 76 (1-2):42-48.
2. Sakmanoğlu A. (2015). *Corynebacterium Pseudotuberculosis* Fosfolipaz d (PLD) Geninin Aktarımı ve PLD Enziminin Aşı Olarak Kullanılması. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya.
3. Al-Gaabary MH, SA Osman, AF Oreiby. (2009). Caseous Lymphadenitis in Sheep and Goats: Clinical, Epidemiological and Preventive Studies. *Small Rumin Res.* 87 (1-3): 116-121.
4. Dorella FA, Pacheco LGC, Oliveria SC, Miyoshi A, Azevedo V. (2006). *Corynebacterium Pseudotuberculosis*: Microbiology, Biochemical Properties, Pathogenesis and Molecular Studies of Virulence. *Vet Res.* 37(2): 201-218.
5. Baird GJ, Fontaine MC. (2007). *Corynebacterium Pseudotuberculosis* and Its Role in Ovine Caseous Lymphadenitis. *J Comp Pathol.* 137(4): 179-210.
6. LH Williamson. (2001). Caseous Lymphadenitis in Small Ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim.*17(2):359-371.
7. Guimaraes A, do Carmo FB, Pauletti RB et al. (2011). Caseous Lymphadenitis: Epidemiology, Diagnosis, and Control. *IIOAB J.* 2(2): 33-43
8. 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. *Alex J Vet Sci.* 51(2): 189-198.
9. Umer M, Abba Y, Jesse F, Sharif A. (2017). Caseous Lymphadenitis in Small Ruminants: An Overview on Reproductive Implications. *J Vet Sci Anim Husb.* 2(2): 23-31.
10. Batey RG. (1986). Pathogenesis of Caseous Lymphadenitis in Sheep and Goats. *Aust Vet J.* 63(9): 269-272
11. Osman AY, Nordin ML, Kadir AA, Saharee AA. (2018). The Epidemiology and Pathophysiology of Caseous Lymphadenitis: A review. *J Vet Med Res.* 5(3): 1129.
12. İlhan, Z. (2003). Koyunlarda *Corynebacterium Pseudotuberculosis*' in ELISA ve Dot-Blot ELISA ile Teşhisi. *Turkish J Vet Anim Sci.* 27(6).
13. Stoops SG, Renshaw HW, Thilsted JP. (1984). Ovine Caseous Lymphadenitis: Disease Prevalence, Lesion Distribution, and Thoracic Manifestations in a Population of Mature Culled Sheep From Western United States. *Am J Vet Res.*45: 557-561.
14. Al-Rawashdeh OF, Al-Qudah KM. (2000). Effect of Shearing on the Incidence of Caseous Lymphadenitis in Awassi Sheep in Jordan. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 47: 287-293

15. Selim AM, Atwa SM, El Gedawy AA, Younis EE. (2021). Epidemiological, Bacteriological and Molecular Studies on Caseous Lymphadenitis in Sheep of Dakhliya, Egypt. *J Anim Sci Biotechnol.*1-6.
16. Cetinkaya B, Karahan M, Atil E. (2002). Identification of *Corynebacterium Pseudotuberculosis* Isolates From Sheep and Goats by PCR. *Vet Microbiol.* 88(1): 75-83.
17. Aslan Ö, Gümüşsoy KS, Bekdik İK, Akcay A, Demiral ÖO. (2016). Seroprevalence of Caseous Lymphadenitis in Kangal Akkaraman Sheep. *Turkish J Vet Anim Sci.* 40(6): 811-816.
18. Muz A, Erokşuz H, Ongor H, et al. (1995). Microbiological, Serological and Pathological Investigations on The Prescapular Lymph Nodes with Abscesses From Sheep in the Abattoir of Meat and Fish Organisation in Elazığ. *FU Sağlık Bil Derg.* 9, 204-211
19. Alves JRA, de Farias AEM, da Silva JD, et al. (2020). Factors Associated with the Seroprevalence of Caseous Lymphadenitis in Sheep from Northeastern Brazil. *Prev Vet Med.* 182, 105098.
20. Seyffert N, Guimarães AS, Pacheco LG. 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.
21. Farias AM, Alves JR, Alves FS. et al. (2018). Serological Study on *Corynebacterium Pseudotuberculosis* Infection in Goats in the Brazilian Northeast Using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA-indirect). *Pesq Vet Bras.* 38: 1344-1350
22. Costa L, Huerta B, Galán-Relaño Á, et al. (2020). Utility Assessment of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Subclinical Cases of Caseous Lymphadenitis in Small Ruminant Flocks. *Vet Med Sci.* 6(4): 796-803.
23. Tripathi BN, Kumar J. Sonawane GG, Kumar R, Dixit SK. (2016). Microbiological and Molecular Investigation of Clinically Suspected Caseous Lymphadenitis Cases in Goats. *Agric Res.* 5(4): 413-419.
24. Kumar J, Tripathi BN, Kumar R, Sonawane GG, Dixit SK. (2013). Rapid Detection of *Corynebacterium Pseudotuberculosis* in Clinical Samples From Sheep. *Trop Anim Health and Prod.*45(6): 1429-1435.
25. Chirino-Zárraga C, Scaramelli A, Rey-Valeirón C. (2006). Bacteriological Characterization of *Corynebacterium Pseudotuberculosis* in Venezuelan Goat flocks. *Small Rumin Res.* 65, 170-175.
26. Mubarak M, Bastawrows AF, Abdel-Hafeez MM, Ali MM. (1999). Caseous Lymphadenitis of Sheep and Goats in Assiut Farms and Abattoirs. *Assiut Vet Med J.* 42: 89-112
27. Guimaraes AS, Carmo FB, Heinemann MB, et al. (2011). High Sero-prevalence of Caseous Lymphadenitis Identified in Slaughterhouse Samples as a Consequence of Deficiencies in Sheep Farm Management in the State of Minas Gerais, Brazil. *BMC Vet Res.* 7: 68.
28. Costa L, Maldonado A, Huerta B, Almeida A. (2019). Optimization of a Conventional PCR Assay for the Identification of *Corynebacterium Pseudotuberculosis* from Pyogenic Lesions. *Int J Vet Sci Anim Husb.* 7(2): 201-210
29. Nassar AFD, Daniel GT, Ruiz R, et al. (2016). Diagnostic comparison of *Corynebacterium Pseudotuberculosis* Through Microbiological Culture and PCR in Sheep Samples. *Arq Inst Biol.* 82: 1-6.
30. Jung BY, Lee SH, Kim HY, et al. (2015). Serology and Clinical Relevance of *Corynebacterium Pseudotuberculosis* in Native Korean Goats (*Capra hircus coreanae*). *Trop Anim Health Prod.* 47(4): 657-661.
31. Zavoşti FR, Khoojine ABS, Helan JA, Hassanzadeh B, Heydari AA. (2012). Frequency of Caseous Lymphadenitis (CLA) in

- Sheep Slaughtered in an Abattoir in Tabriz: Comparison of bacterial culture and pathological study. *Comp Clin Path.* 21(5): 667-671.
32. Chikhaoui M, Khoudja FB. (2013). Clinicopathological Investigation on Caseous Lymphadenitis in Local Breed Sheep in Algeria. *Trop Anim Health Prod.* 45(7): 1641-1643
33. Parin U, Kirkan S, Ural K, et al. (2018). Molecular Identification of *Corynebacterium Pseudotuberculosis* in sheep. *Acta Veterinaria Brno.* 87(1): 3-8.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Ayşe EKİNCİ YILDIZ

Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları

Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

E-posta: ekinci-aysee@hotmail.com