

Ruminantlarda *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* Enfeksiyonunun İmmunolojik Özellikleri

Ezgi Şababođlu, Hülya Türütođlu

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Burdur

Geliş Tarihi / Received: 10.04.2017, Kabul Tarihi / Accepted: 23.10.2017

Özet: *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, hayvan sağlığını etkileyen ve ciddi ekonomik kayıplara sebep olan önemli bir patojendir. Etkenin mevcut immün sistemden kaçma stratejileri nedeniyle bugüne kadar paratüberküloza karşı etkili bir aşı geliştirilememiş ve uygun bir koruma ve kontrol stratejisi belirlenememiştir. *M. avium* subsp. *paratuberculosis*'e karşı doğru kontrol stratejilerinin geliştirilebilmesi için konakçı-patojen etkileşimini düzenleyen hücrel ve moleküler mekanizmalar ile hastalığın patolojik temelini detaylı olarak anlaşılması gerekmektedir. Bu derlemede; *M. avium* subsp. *paratuberculosis* ile konakçı ilişkisi ve konakçada gelişen immünolojik reaksiyonlar üzerine kapsamlı bilgiler sunuldu.

Anahtar kelimeler: İmmünoloji, konakçı savunması, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*

Immunological Characteristics of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* Infection in Ruminants

Abstract: *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* is an important pathogen that affects animal health and causes serious economic loss. Due to the current strategy of escape from the immunity system, so far, an effective vaccine against paratuberculosis has not been developed and no appropriate protection and control strategy has been determined. In order to develop correct control strategies against *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, cellular and molecular mechanisms regulating the host-pathogen interaction and the pathological basis of the disease must be understood in detail. In this review *M. avium* subsp. *paratuberculosis*-host interactions and the information on the immunological reactions developed in the host were presented.

Keywords: Host defense, immunology, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*

Giriş

Paratüberküloz (Johne hastalığı), *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (*Map*) tarafından oluşturulan, kronik granümatöz enterokolitis, bölgesel lenfanjit ve lenfadenitis ile karakterize yavaş gelişen hatta ölümlü sonuçlanabilen bir hastalıktır [36, 41]. Evcil ve yabani ruminantlarda (sığıır, koyun, keçi, bizon, geyik, alpaka, lama, deve, manda) ve ruminant olmayan yabani türlerde (tavşan, tilki, maymun, porsuk, çakal, kuş, kedi, rakun) [3, 20, 23] hastalığa neden olmaktadır. Çok eskiden beri bilinen bir hastalık olmasına rağmen, patogenezi henüz tam olarak ortaya konulamamış ve dolayısıyla hastalığın kontrolü için etkili bir aşı veya uygun bir tedavi protokolü öngörülemedi. Hayvan sağlığını tehdit eden ve büyük ekonomik kayıplara yol açan bu hastalığın önemi günümüzde halen devam etmektedir [20]. Ekonomik zararının

yanı sıra ruminant paratüberkülozu ile insanların Crohn hastalığı arasında yakın bir ilişkinin tespit edilmesi, son zamanlarda paratüberküloz hastalığının daha çok ilgi çekmesine yol açmıştır [24]. Crohn hastalarının ince barsaklarındaki histopatolojik bulguların paratüberküloza büyük benzerlik gösterdiği ve vakaların çoğunda paratüberküloz hastalığının etkeni olan *Map*'in izole edildiği bildirilmesine rağmen, *Map*'in hastalığın oluşumundaki rolü kesin olarak ortaya konulamamıştır [4, 9]. Etkenin enfekte hayvanların dışkısının yanı sıra sütleriyle de atıldığı tespit edilmiş ve enfekte hayvanların süt ve süt ürünlerinin insanlar için potansiyel bir bulaşma kaynağı olabileceği ileri sürülmüştür [4, 13, 16].

Hastalığın Gelişim Evreleri ve Konakçı Yanıtı

Ruminantlarda paratüberküloz farklı evrelerden oluşmakta ve konakçının patolojik durumlara kar-

şı gösterdiği immun yanıtı bağı olarak bu evreler erken, subklinik ve klinik enfeksiyon evresi olarak sınıflandırılmaktadır [23].

Erken Evre

Hastalığın erken evresi, 2 yaştan küçük hayvanlarda ya da *Map*'in düşük konsantrasyonlarının (501.0x10³CFU) sindirim [20] veya vertikal [39] yol ile bulaştığı hayvanlarda görülmektedir. Konakçı tarafından sindirim yoluyla alınan *Map*'in, bağırsak ile ilişkili lenfoid dokuya (gut-associated lymphoid tissue, GALT) yerleştiği ve Payer plaklarında bulunan M hücreleri ile fibronektin köprüsü kurarak konakçıya girdiği bilinmektedir [20, 32]. Fibronektin köprüsünün yanısıra, *Map*'in epitel hücrelerine invaze olabileceği de bildirilmiştir [20, 30]. *Map*'in, vücuda girdikten sonra intestinal makrofajlara invaze olma yeteneğine sahip olduğu ve çeşitli stratejilerle konakçı savunmasını engelleyerek makrofajların içlerinde yaşayıp replike olabildiği açıklanmıştır [20, 32]. Bakterinin makrofajlar içinde hayatta kalma stratejisini farklı mekanizmalar oluşturmaktadır. Bakterinin kullandığı bu mekanizmalar arasında; stres koşullarında spor benzeri yapı oluşturarak ısı, lizozim ve proteinaz K'dan korunması [20], fagozom olgunlaşmasını inhibe etmesi, makrofaj apoptozisini ve fagozom asitleşmesini engellemesi [3, 10, 32], MHC molekülünün ekspresyonunu azaltması [32] ve sinyal iletim yollarını etkilemesi [1, 33] sayılabilir.

Map'e karşı konakçı tarafından oluşturulan doğal savunma mekanizması: Birçok mikroorganizmada bulunan ve oldukça korunmuş patojen ile ilişkili moleküler yapıları (pathogen associated molecular patterns, PAMP) tanıyan reseptörler (pattern-recognition receptors, PRRs), PAMP'ları bağlayarak hücrelerarası sinyal yollarını oluşturur ve böylece immun sistem hücrelerinin yangıyı uyaran molekülleri salgılamasına ve immun yanıtın uyarılmasına yol açarlar [29, 35]. *Map*'in endositozunda görevli fagositik hücrelerin üzerinde *Map*'i bağlayan önemli PRR'ler bulunmaktadır. Bu reseptörler (PRR) arasında komplement reseptörleri (complement receptor, CR1, CR3, CR4), mannoz reseptörü (MR), membran proteinini bağlayan bir fosfatidilinositol olan CD14 [32], CD11a, CD18 gibi β-integrin reseptörleri [23], sürfaktan protein-

ler, mannoz bağlayan lektinler (mannose-binding lectins, MBLs), C1q, IgG ile kaplı mikobakteriler için Fcγ reseptörü [32], transferrin reseptörleri, toll benzeri reseptör (toll-like receptors, TLR) 2, TLR 4 [23] ve TLR 9 [2] bulunmaktadır. En önemli PRR'lerden olan TLR'ler ile immun sistem uyarılarak sitokin yanıtı başlatılır [29]. Fagozomal olgunlaşma gibi mikobakterilerin patogeneğinde önemli hücresel işlemler TLR aracılığıyla şekillenmektedir [29]. TLR üretimindeki artışın *Map*'e karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir [3]. TLR'lerin farklı etkiye sahip olmaları nedeniyle paratüberküloza karşı gelişen immun yanıtındaki rollerinin oldukça karışık olduğu bildirilmiştir [3], TLR'lerde meydana gelen mutasyonların mikobakterilere karşı duyarlılığı arttırdığı ileri sürülmüştür [23].

Mikobakterilerin öldürülmesinde etkili mekanizmalar: Mikobakterilerin öldürülmesinde en önemli mekanizmanın makrofaj aktivasyonu olduğu, makrofaj aktivasyonunda ise interferon gama (IFN-γ) ve tümör nekrozis faktör-beta (TNF-β) gibi proenflamatuar sitokinlerin rol oynadığı bildirilmiştir [32]. Lipopolisakkaritleri tanıyan TLR'ler tarafından aktive olan monosit ve makrofaj gibi mononükleer fagositler tarafından mikroorganizmaların sindirildiği, hücre içinde ise otofaji uyarılarak antimikrobiyal peptidler, reaktif oksijen/nitrojen ara ürünleri aracılığı ile mikroorganizmanın öldürüldüğü açıklanmıştır [31, 40]. D vitamininin aktif metaboliti olan 1, 25-dihidroksikolekalsiferol (kalsitriol, [1, 25 (OH)2D3])'ün ise CD14 ve mannoz reseptörü gibi yüzey reseptörlerinin üretimini artırarak makrofajların fagositoz yeteneğini güçlendirdiği, katelisin ve defensinlerin ekspresyonunu artırarak makrofajların antimikrobiyal etkisine katkıda bulunduğu ve ayrıca antijen sunumunun yanısıra bazı kemokin, sitokin ve makrofaj faktörlerinin sekresyonunu da düzenlediği açıklanmıştır [31]. Serbest yağ asitlerinin ve granülizinin de antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)*'in makrofajlar tarafından öldürülmesinde önemli rol oynadığı açıklanmıştır [32]. Bunun yanısıra apoptozisin de mikobakterinin yayılımını engelleyen diğer bir mekanizma olduğu belirtilmiştir [32].

Konakçı tarafından oluşturulan kazanılmış immun yanıt: Mikobakteri enfeksiyonlarının erken evresinde hücresel immun yanıtın çok önemli olduğu

bilinmektedir. Ancak *Map*, hayatta kalabilmek için erken gelişen bu hücrel immun yanıtı engelleyen stratejiler geliştirmektedir [23]. Örneğin, *Map* makrofajları enfekte ettiğinde fagozom lizozom füzyonunu engeller ve mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz (mitogen activated protein kinase, MAPK) düzeyini artırır. MAPK, IL-10 sentezini arttırarak ve fagozom-lizozom füzyonunu engelleyerek bakterinin yaşamasına yardımcı olur [38]. Ayrıca TLR'lerde (TLR2 ve TLR4) de artış olur. Aktive edilen makrofajlar interleukin-1 (IL-1), tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve IL-12 gibi pro-enflamatuvar sitokinleri üretir. IL-6, IL-8 ve IL-10'da artış gözlenir. IL-1'in artışı sonucunda IL-2 üreten T hücreleri aktive olur ve CD4⁺ yardımcı T hücrelerinin ve CD8⁺ sitozolik T hücrelerinin klonal çoğalmasına yol açar [32].

Paratüberkülozun erken aşamasında CD4⁺T hücreleri oldukça önemlidir. *Map* makrofajlar tarafından fagosite edildikten sonra makrofajlar tarafından antijen sunumu gerçekleşir ve sitokinler aracılığıyla CD4⁺T hücreleri aktive olarak hücrel immun yanıt şekillenir [6]. CD4⁺T hücrelerinin alt tipleri intrasellüler *Map*'e karşı hücrel immun yanıtı aktive etmede görevlidir. Aktive edilmiş makrofajlar enfeksiyon bölgesine CD4⁺T hücrelerini toplayan IL-12 ve kemokinleri salgılamaktadır. CD4⁺T hücreleri ya Th1 ya da Th2 hücrelerine farklılaşır. Th1 hücrelerinin aktivasyonu IFN- γ , IL-2 ve TNF- α sentezine neden olur [32]. Sentezlenen IFN- γ da makrofajlara IL-12 salgılanması ve yangısal değişiklikleri teşvik etmek üzere etki eder [23]. Ayrıca, B hücreleri de CD4⁺T hücrelerine antijen sunarak daha fazla IFN- γ sentezlenmesini sağlar [36]. IFN- γ , Th1 hücreleri aracılığıyla gelişen hücrel immun yanıtı da uyarır [23]. Diğer taraftan makrofajlar ve intestinal epitel hücreleri tarafından üretilen IL-18'in de IFN- γ üretimini arttırdığı belirtilmiştir [32].

Son yıllarda paratüberkülozun erken aşamasında gama-delta T ($\gamma\delta$ T) hücrelerinin rolü üzerinde çalışılmaktadır. $\gamma\delta$ T hücreleri 6 aylıktan küçük buzağılarda baskın olan T hücreleridir [32]. Buzağılarda sirkülasyondaki periferik kan mononükleer hücrelerinin yaklaşık %40'mı, yetişkin sığırlarda ise %10-15'ini oluşturmaktadır [23]. Deneysel yapılan bir çalışmada; canlı *Map* içeren inokulumların enjekte edildiği buzağılarda $\gamma\delta$ T hücrelerinin hastalığın er-

ken döneminde enfeksiyon bölgesine göç ettikleri gösterilmiştir [26]. $\gamma\delta$ T hücrelerinin antijenlerin CD4⁺T hücrelerine sunulmasında [23], canlı mikobakteri veya mikobakteriyel hücre duvarına karşı IFN- γ üretiminde [15], IFN- γ etkisi altında TNF- α salgılanmasında [32], intrasellüler ve ekstrasellüler *Mtb* etkenlerini granülizin salgılayarak öldürülmesinde, enfekte dendritik hücrelerden IL-17A salgılanmasında [21], IL-10 ve TGF- β üretiminde [5], Th1 immun yanıtının düzenlenmesi ve diğer dokulardaki hasarı engellemek için granülasyon oluşumunda [32] görevli olduğu rapor edilmiştir. IL-15'in ise IL-12 reseptörlerini etkilediği ve intraepitelyal $\gamma\delta$ T hücrelerini stimüle ettiği açıklanmıştır [32]. Diğer taraftan $\gamma\delta$ T hücrelerinin, sistemik sirkülasyonda strese oldukça duyarlı oldukları ve bu nedenle strese maruz kalan hayvanların paratüberküloza daha duyarlı olabilecekleri ileri sürülmüştür [32].

Bazı araştırmacılar [10, 17], dışkı, süt, doku gibi örneklerde az miktarda basil bulunduran paratüberkülozlu hayvanlarda Th1 (IFN- γ) yanıtının, çok miktarda basil içeren hayvanlarda ise Th2 tip yanıtının daha ağırlıkta olduğunu bildirmiştir. Fazla sayıda basil bulunan sığırlarda IL-2, IL-4 ve IL-10 düzeylerinde artış gözlemlendiği belirtilmiştir [22]. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda [27, 37], ise deneysel olarak enfekte edilen hayvanlarda IFN- γ yanıtı gibi kısa bir sürede antikor yanıtının geliştiği saptanmıştır. Begg ve ark. [8] koyunlar üzerinde yürüttükleri deneysel çalışmalarında; enfekte koyunların %39'unda immun yanıtın güçlü IFN- γ yanıtından antikor yanıtına dönüştüğünü, %50'sinde enfeksiyonun erken aşamasında IFN- γ ve antikor yanıtının birlikte olduğunu, %16'sında ise antijene spesifik antikor yanıtının engellediğini saptamışlar ve bu bulgulara göre enfekte koyunlarda Th1 yanıtının Th2 yanıtına dönüşmesinin yaygın olmadığını ileri sürmüşlerdir.

Subklinik Evre

Subklinik evre, paratüberkülozun 2-5 yıla kadar sürebilen uzun bir latent fazıdır [23]. Bu fazda enfekte hayvan klinik bulgu göstermez, sağlıklı görünür. Fakat bu fazın geç aşamalarında hayvanlar aralıklı olarak dışkı ile etkeni çıkarır ve antikor düzeyi genellikle düşüktür [23, 36]. Bu evredeki hayvanla-

rın yaklaşık %10'unda IFN- γ ve antikor düzeyleri tespit edilebilir bir seviyeye yükselir [7, 11]. Tanı testlerinin yetersizliği veya *Map*'in aralıklı olarak çıkarılmasından dolayı subklinik enfekte hayvanların tespit edilmesi zordur ve bu durum Johne hastalığının kontrolünü zorlaştırmaktadır [23, 36]. IgG1 sınıfı antikorların subklinik enfeksiyonun özellikle orta ve ileri aşamalarında tespit edilebileceği bildirilmiştir [23].

Paratüberkülozun bilinen en önemli özelliği ince bağırsağın orta ve alt segmentlerinde granülom oluşturmasıdır. Subklinik evredeki hayvanlarda küçük granülomlar gözlenmektedir [34]. Bu granülatöz lezyonların, *Map*'in bağırsağın diğer bölümleri ile lenf düğümlerine yerleşmesini engellemek ve kontrol etmek için konakçı tarafından oluşturulan geç immün yanıtla ilişkili olabileceği düşünülmüştür [14]. Ancak bu granülomların mikobakteriler tarafından enfeksiyon yerine yeni makrofajları toplamak ve yer değiştirmek için kullanabileceği de ileri sürülmüştür [14]. Kısacası *Map*'in bağırsağın başka bölümleri ile meme bezleri ve mezenterik lenf düğümleri gibi diğer organları enfekte etmek için granülomlardan köprü olarak yararlanabileceği belirtilmiştir [20]. Granülomların içinde *Map* bulunduran makrofajlar ve dev hücreler bulunmaktadır. CD8⁺T hücreleri ve CD4⁺T hücreleri bu granülomların etrafını çevreler. Bu aşamada en önemli sitokin, $\gamma\delta$ T hücreleri ve CD4⁺T hücreleri tarafından salınan TNF- α 'dır. TNF- α , makrofajları toplayarak enfeksiyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olur. Ancak doku hasarına da neden olabilir. Makrofajlar tarafından salınan IL-10, CD4⁺T hücrelerini baskılayarak IFN- γ üretimini azaltır. IFN- γ düzeyinin azalması nedeniyle yeni toplanan makrofajlar kalıcı enfekte olma eğilimindedir. Bu aşamada sitotoksik T hücre popülasyonu (CD8⁺ ve $\gamma\delta$ T hücreleri) farklı roller oynamaktadır. $\gamma\delta$ T hücreleri CD4⁺T hücre proliferasyonunu baskılayarak, CD8⁺T hücre proliferasyonunu korur. Ayrıca $\gamma\delta$ T hücreleri granülasyon oluşumuna neden olur ve yangısal yanıtı kısıtlar. Humoral immün yanıt sınırlıdır. $\gamma\delta$ T hücrelerinden ve CD4⁺T hücrelerinden salınan IFN γ , makrofajların hücre içi *Map*'i öldürmesi için yeterli değildir. IFN- γ yanıtı yeterli olmadığı için IgG1, IgG2'ye dönüşmez ve IgG1 tip immünglobulin yanıtı devam eder [32].

Erken subklinik aşamada olan hayvanların ileal dokularında IFN- γ , TNF- α , IL-1 α ve IL-6 gibi pro-enflamatuar sitokinlerin aşırı sentezine bağlı olarak CD4⁺T hücrelerinin oldukça fazla çoğaldığı Th1 tip hücresel immün yanıtının baskın olduğu gözlenmiştir [12, 19]. Fakat hastalıkta Th1 hücresel yanıtın, artan antikor yanıtı ile birlikte azaldığı bildirilmiş, ancak bu değişikliğin arkasındaki nedenin ve ne zaman olduğunun kesin olarak bilinmediği belirtilmiştir [23]. Subklinik aşamada düzenleyici T (regulatory T, Treg) hücrelerinin düşük düzeyde *Map* antijenleri ile uyarıldığı ve *Map*'e karşı gelişecek etkili bir T hücre yanıtını kısıtladığı açıklanmıştır [15]. Ayrıca bu dönemin hastalığın subklinik formdan klinik forma dönüştüğünün de göstergesi olduğu ifade edilmiştir [28]. Treg hücrelerinin immunomodülatör etkilerini IL-10 ve TGF- β üreterek gösterdikleri bilinmektedir [15]. Roussey ve ark. [28], sığır Treg hücrelerinin *Map*'e karşı spesifik olmadığını ve non-spesifik etkili bu Treg hücrelerinin in vitro koşulda Th1 sitokinlerinden IFN- γ ile sitotoksik T hücrelerinin sitotoksik fonksiyonunda görevli ve perforini kodlayan önemli bir protein olan profilin-1'in üretimini baskıladığını ortaya koymuşlardır.

Klinik Evre

Map ile enfekte hayvanlarda subklinik fazın geç dönemi ile erken klinik faz döneminde sürekli ishal, yem yemede azalma, halsizlik, kas erimesi ve süt üretiminde azalma gibi klinik belirtiler gözlenmekte ve hastalık en son aşamada ölüme neden olmaktadır [23]. Klinik bulguların ilerlediği dönemde, aşırı ishal, zayıflama ve kaşeksi görülmektedir [20]. Hayvanlar aşırı zayıftır ve bağırsakta fonksiyon kaybı nedeniyle özellikle albümin başta olmak üzere serum proteinlerinin konsantrasyonunun düşmesi sonucu submandibular ödem ortaya çıkmaktadır [10, 20]. Subklinik evrede olduğu gibi bu evrede de süt verimi azalır [23]. Ayrıca klinik aşamada *Map*, sürekli olarak dışkı, süt ve kolostrum ile etrafa saçılmaktadır. Bu durum ise *Map*'in sürü içinde yayılım riskini arttırmaktadır [23].

Klinik belirti gösteren hayvanlarda intestinal mukozada *Map* yükü yüksek konsantrasyona ulaştığı için dışkı kültürü ile polimeraz zincir reaksiyonu pozitif sonuç verir ve bu hayvanlarda antikorlar

ELİZA testi ile de tespit edilebilir [18]. Ayrıca bu dönemde süt ve kolostrumda da etkenin tespit edilebildiği [25] ve gebe hayvanların bakteriyi uterusu yavruya geçirebildiği [39] rapor edilmiştir. Lenfosit, epitelioid makrofaj ve dev hücre infiltrasyonu ile kalınlaşan intestinal mukozada villus ve mikrovillusların fonksiyonlarını kaybettiği saptanmıştır [20]. İntestinal mukozadaki kalınlaşma ile intestinal duvarda granümatöz yangı gibi patolojik lezyonların varlığı protein kaybına neden olan enteropatinin kanıtı olarak belirtilmiştir [23, 36]. Ayrıca *Map*'in, supramammar, karaciğer ve akciğer lenf düğümleri de dâhil olmak üzere bağırsak dışında diğer organlara da yayılabildiği bildirilmiştir [20].

Klinik bulguların görülmesiyle birlikte immün yanıtın Th1'den Th2 aracılığıyla gelişen immün yanıtı dönüştüğü gözlenmiştir [7]. Antikor üreten B hücrelerinin arttığı ve bununla orantılı bir şekilde serum antikor düzeylerinin de tespit edilebilir şekilde yükseldiği ortaya konulmuştur [23]. İmmün yanıtta bu değişiklikler belirlenmiş olmasına rağmen, bu değişime neden olan faktörler henüz aydınlatılamamıştır [23]. İmmün yanıtın değişimi ile periferik mononükleer kan hücrelerinde, ileum ve ilgili lenf nodüllerinde IL-10, TGF- β , IL-4 gibi anti-enflamatuar sitokinlerin baskın olduğu gözlenmiştir [12, 23]. Ayrıca Treg hücreleri (CD4+CD25+) tarafından IL-10 ve TGF- β sentezinin sağlandığı ve böylece CD4⁺T hücre popülasyonunun daha çok baskılandığı, Th2 hücre yanıtının baskılanması nedeniyle B hücre yanıtının azaldığı bildirilmiş, ancak B hücre yanıtının diğer deyişle IgG1 yanıtının bu aşamada hala ölçülebilir düzeyde kaldığı açıklanmıştır [36].

Sonuç olarak, bugüne kadar paratüberküloz için etkenin mevcut immün sistemden kaçma stratejileri nedeniyle uygun bir koruma ve kontrol stratejisi belirlenememiş, etkili bir aşı geliştirilememiştir. Spesifik bir aşı veya tedavinin bulunabilmesi için *Map*'in, immün sistemden kaçış mekanizmalarının ve patogenezinin anlaşılması gerekmektedir. Bu derlemede, *Map*'in enfeksiyon oluşturma mekanizmaları ile immün sistemi nasıl yanılttığı ve kalıcı enfeksiyonun nasıl oluştuğu açıklandı. Yapılan literatür taramalarında detaylı çalışmalarla karşılaştırılmasına rağmen, hastalığın patogenezinde hala açıklanamayan mekanizmaların bulunduğu ve hastalığın oluşum mekanizmasının henüz tam olarak

anlaşılamadığı görülmektedir. Bu nedenle, *Map*'in virülens faktörleri ile hastalığın patogenezi ve konakçının genetik duyarlılığı gibi konuların daha iyi anlaşılabilmesi için daha ayrıntılı çalışmalara gereksinim olduğu söylenebilir. Ancak bu detaylı çalışmalar sonucunda, etkili bir tedavi veya aşı bulunarak ya da yeni tanı testleri geliştirilerek hastalığın kontrolü yapılabilir ve böylece hayvan sağlığının yanı sıra insanlar için de gıda güvenliği sağlanabilir.

Kaynaklar

1. Arsenault RJ, Li Y, Bell K, Doig K, Potter A, Griebel PJ, Kusalik A, Napper S, (2012). *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* inhibits interferon gamma induced signaling in bovine monocytes: insights into the cellular mechanisms of Johne's disease. *Infect Immun.* 80, 3039-3048.
2. Arsenault RJ, Li Y, Maattanen P, Scruten E, Doig K, Potter A, Griebel P, Kusalik A, Napper S, (2013). *Altered Toll-like receptor 9 signaling in Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*-infected bovine monocytes reveals potential therapeutic targets. *Infect Immun.* 1, 226-237.
3. Arsenault RJ, Maattanen P, Daigle J, Potter A, Griebel P, Napper S, (2014). *From mouth to macrophage: mechanisms of innate immune subversion by Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Vet Res.* 45, 54.
4. Ayele WY, Machackova M, Pavlik I, (2001). *The transmission and impact of paratuberculosis infection in domestic and wild ruminants*. *Vet Med-Czech.* 46, 205-224.
5. Baquero MM, Plattner BL, (2016). *Bovine WCI(+)* $\gamma\delta$ T lymphocytes modify monocyte-derived macrophage responses during early *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection. *Vet Immunol Immunopathol.* 170, 65-72.
6. Basler T, Geffers R, Weiss S, Valentin-Weigand P, Goethe R, (2008). *Mycobacterium avium* subspecies induce differential expression of proinflammatory mediators in a murine macrophage model: evidence for enhanced pathogenicity of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Immunobiology.* 213, 879-888.
7. Bassey EO, Collins MT, (1997). *Study of T-lymphocyte subsets of healthy and Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*-infected cattle. *Infect Immun.* 65, 4869-4872.
8. Begg DJ, de Silva K, Carter N, Plain KM, Purdie A, Whittington RJ, (2011). *Does a Th1 over Th2 dominance really exist in the early stages of Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infections? *Immunobiology.* 216, 840-846.
9. Behr MA, Kapur V (2008): *The evidence for Mycobacterium paratuberculosis in Crohn's disease*. *Curr Opin Gastroenterol.* 24, 17-21.
10. Clarke CJ (1997): *The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species*. *J Comp Pathol.* 116, 217-261.
11. Collins MT, Wells SJ, Petrini KR, Collins JE, Schultz RD, Whitlock RH, (2005). *Evaluation of five antibody detection tests for diagnosis of bovine paratuberculosis*. *Clin Diagn Lab Immunol.* 12, 685-692.

12. Coussens PM, Verman N, Coussens MA, Elftman MD, McNulty AM, (2004). *Cytokine gene expression in peripheral blood mononuclear cells and tissues of cattle infected with Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: evidence for an inherent proinflammatory gene expression pattern. *Infect Immun.* 72, 1409-1422.
13. Çetinkaya B, Muz A, Ertaş B, Öngör H, Sezen Y, Gülcü B, (2000). *Süt ineklerinde paratüberküloz prevalansının polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile saptanması*. *Türk J Vet Anim Sci.* 24, 371-379.
14. Davis JM, Ramakrishnan L, (2009). *The role of the granuloma in expansion and dissemination of early tuberculous infection*. *Cell.* 136, 37-49.
15. de Almeida DE, Colvin CJ, Coussens PM, (2008). *Antigen-specific regulatory T cells in bovine paratuberculosis*. *Vet Immunol Immunopathol.* 125, 234-245.
16. Ellingson JLE, Anderson JL, Koziczkowski JJ, Radcliff RP, Sloan, SJ, Allen SE, Sullivan NM, (2005). *Detection of viable Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in retail pasteurized whole milk by two culture methods and PCR. *J Food Prot.* 68, 966-972.
17. Gillan S, O'Brien R, Hughes AD, Griffin JF, (2010). *Identification of immune parameters to differentiate disease states among sheep infected with Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Clin Vaccine Immunol.* 17, 108-117.
18. Kalis CH, Barkema HW, Hesselink JW, van Maanen C, Collins MT, (2002). *Evaluation of two absorbed enzyme-linked immunosorbent assays and a complement fixation test as replacements for fecal culture in the detection of cows shedding Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *J Vet Diagn Invest.* 14, 219-224.
19. Khalifeh MS, Stabel JR, (2004). *Effects of gamma interferon, interleukin-10, and transforming growth factor beta on the survival of Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in monocyte-derived macrophages from naturally infected cattle. *Infect Immun.* 72, 1974-82.
20. Lamont EA, (2012). *Survival strategies of Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in a variety of microenvironments. PhD Thesis, The University of Minnesota, Minnesota, United States.
21. Lockhart E, Green AM, Flynn JL, (2006). *IL-17 production is dominated by T cells rather than CD4 T cells during Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol.* 177, 4662-4669.
22. Magombedze G, Eda S, Stabel J, (2015). *Predicting the role of IL-10 in the regulation of the adaptive immune responses in Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infections using mathematical models. *PLoS One.* 10, e0141539.
23. Mallikarjunappa S, (2013). *Cytokine gene expression in Holstein-Friesian and Jersey Calves infected with Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Master Thesis. The University of Guelph, Ontario, Canada.
24. Nielsen SS, (2008a). *Transitions in diagnostic tests used for detection of Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infections in cattle. *Vet Microbiol.* 132, 274-282.
25. Nielsen SS, Bjerre H, Toft N, (2008b). *Colostrum and milk as risk factors for infection with Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 91, 4610-4615.
26. Plattner BL, Doyle RT, Hostetter JM, (2009). *Gamma-delta T cell subsets are differentially associated with granuloma development and organization in a bovine model of mycobacterial disease*. *Int J Exp Pathol.* 90, 587-597.
27. Robinson M, O'Brien R, Mackintosh C, Griffin F, (2008). *Differential immune responses of red deer (Cervus elaphus) following experimental challenge with Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Clin Vaccine Immunol.* 15, 963-969.
28. Roussey JA, Steibel JP, Coussens PM, (2014). *Regulatory T cell activity and signs of T cell unresponsiveness in bovine paratuberculosis*. *Front Vet Sci.* 1, 20.
29. Sanjuan MA, Milasta S, Green DR, (2009). *Toll-like receptor signaling in the lysosomal pathways*. *Immunol Rev.* 227, 203-220.
30. Secott TE, Lin TL, Wu CC, (2002). *Fibronectin attachment protein is necessary for efficient attachment and invasion of epithelial cells by Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Infect Immun.* 70, 2670-2675.
31. Selvaraj P, Afsal K, Harishankar M, (2015). *Vitamin D and macrophage functions in tuberculosis*. *Macrophage.* 2, e756.
32. Sohal JS, Singh SV, Tyagi P, Subhodh S, Singh PK, Singh AV, Narayanasamy K, Sheoran N, Komal Singh Sandhu, (2008). *Immunology of mycobacterial infections: with special reference to Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Immunobiology.* 213, 585-598.
33. Sommer S, Pudrith CB, Colvin CJ, Coussens PM, (2009). *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* suppresses expression of IL-12p40 and iNOS genes induced by signalling through CD40 in bovine monocyte-derived macrophages. *Vet Immunol Immunopathol.* 128, 44-52.
34. Tiwari A, VanLeeuwen JA, McKenna SL, Keefe GP, Barkema HW, (2006). *Johne's disease in Canada Part I: clinical symptoms, pathophysiology, diagnosis, and prevalence in dairy herds*. *Can Vet J.* 47, 874-882.
35. Tizard IR, (2009). *Veterinary Immunology*, 8th edition, Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, p: 11-16.
36. Wadhwa A, Kumar N, Velasco-Villa A, Eda S, (2013). *Overview of Johne's disease immunology*. *Veterinary World.* 6, 901-904.
37. Waters WR, Miller JM, Palmer MV, Stabel JR, Jones DE, Koistinen KA, Steadham EM, Hamilton J, Davis WC, Bannantine JP, (2003). *Early induction of humoral and cellular immune responses during experimental Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection of calves. *Infect Immun.* 71, 5130-5138.
38. Weiss DJ, Souza CD, (2008). *Modulation of mononuclear phagocyte function by Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Vet Pathol.* 45, 829-841.
39. Whittington RJ, Windsor PA, (2009). *In utero infection of cattle with Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: A critical review and meta-analysis. *Vet J.* 179, 60-69.
40. Woo SR, Czuprynski CJ, (2008). *Tactics of Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* for intracellular survival in mononuclear phagocytes. *J Vet Sci.* 9, 1-8.
41. Yardımcı H, (2006). *Mycobacterium infeksiyonları*. Editörler: Aydın N, Paracıoğlu J. *Veteriner Mikrobiyoloji, İlke-Emek Yayınları, Ankara*, s: 87-107.