

1. GİRİŞ

Ülkemiz hayvancılığı içerisinde sığır yetiştiriciliği önemli bir yer tutmaktadır. Sığır eti ürünleri Dünya' da ve Türkiye' de nüfus artışına paralel olarak artan hayvansal protein ihtiyacının karşılanmasında ilk sırayı almaktadır. Geçmiş yıllarda sığır yetiştiriciliğinin modern tekniklerle yapılmaması pek çok problemin çıkışını oluşturmaktaydı. Son zamanlarda ülkesel bir gelişim olarak yetiştiricilerin bilinç kazanmasıyla birlikte sığır yetiştiriciliği de modern kombinelerde yapılmaya başlanmıştır. Buna paralel olarak da Veteriner Hekimlikte artık münferit vaka sağaltımından ziyade sürü denetimleri ön plana çıkmakta ve koruyucu hekimlik günden güne daha fazla önem kazanmaktadır.

Sığırlarda görülen üst solunum yolu hastalıkları yemden yararlanma, süt veriminde düşme ve canlı ağırlık azalışlarına neden olduğu gibi ilaç ve bakım masraflarının artmasına yol açmaktadır. Hastalığın ortaya çıkışında taşıma, süttten kesme, kalabalık ahırlarda barınma, ve ani iklim değişiklikleri gibi stres faktörleri ile birden fazla mikroorganizma [(virüsler (İnfeksiyöz Bovine Rhinotracheitis (IBR), Bovine Viral Diarrhea Virüs (BVD), Parainfluenza-3 (PI-3), Respiratory Syncytial virüs (RSV)], mantar, çeşitli bakteriler (*Pasteurella spp.*, *Streptococcus spp.*, *Echerichia coli*, *Acinetobacter spp.*, *Mycoplasma spp.* vb) ve parazit türleri rol oynadığından etiyolojik olarak kompleks bir yapıya sahip olduğu kabul edilmektedir (Davis 1985, Frank 1989, Gilmour ve Angus 1983, McKercher 1968, Panciera ve Corsvet 1984, Yates 1982). *Pasteurella* grubu mikroorganizmalar insanlarda (Frederiksen 1989) ve hayvanlarda (Radostis ve ark 1994) bir çok enfeksiyonun primer etkenleridir.

Sığırlarında görülen solunum yolu hastalıklarından hemen hemen en önemlisi olan Pnömonik Pastörolloz, *P. multocida* ve *P. haemolytica* ile ilişkili olup, bronkopnömoni, toksemi, eksudatif pnömoni ile karakterizedir (Yates 1982). Sığır Pnömonik Pastörollozu ilk kez 1915'te Amerika'da ve 1925'te İngiltere'de tanımlanmıştır (Gibbs ve ark 1984). Pnömonilere bağlı ekonomik kayıplar, gelişmiş ülkelerde de büyük sorunlardan birini oluşturmaktadır. Sığır solunum sistemi hastalıklarının, et ve süt sığırcılığında, özellikle Amerika, Kanada, İngiltere ve Avrupa başta olmak üzere dünyanın bir çok bölgesinde halen büyük kayıplara neden olduğu bilinmektedir (Frank 1986, Yates 1982). Pnömonik Pastörolloz'un Kuzey Amerika'da sığır endüstrisini yılda en az 640 milyon doların üzerinde bir kayba uğrattığı (Bowland ve Shewen 2000, Highlander 2001) ve kayıpların stres faktörlerinin ve/veya virüs ve bakterilerin etkisi ile daha da arttığı ortaya konulmuştur (Dyer 1982, Whiteley ve ark 1992).

Pasteurella multocida sığırlarda Solunum Yolu Hastalığı (Bovine Respiratorik Diseases - BRD) olarak bilinen hastalıkların yanında Hemorojik Septisemi (HS)'ye de sebebiyet vermektedir. HS ise daha ziyade genç sığırlarda ve *P. multocida*'nın çeşitli serotiplerinin (B, D ve E) sebep olduğu akut, septisemik ve ölümcül olabilen bir hastalıktır (Bain ve ark 1982, Carter ve De Alwis 1989, De Alwis 1984, 1992). Her iki hastalık da yurdumuzda büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hastalık etkenleri çoğu zaman sağlam hayvanların üst solunum yollarında fakültatif patojen olarak yaşarlar. Hayvanlarda direncin kırılması (stres faktörleri) bu mikroorganizmaların üremesine ve patojenite kazanmasına yardım eder. Hastalıkların ortaya çıkmasındaki en önemli etken ferdin direncidir (Aslan ve ark 1998, Martin 1983, Schiefer ve ark 1978, Scoot 1994).

Hastalık etkeni; kötü besleme, ani iklim değişiklikleri, bakım - beslemede noksanlıklar, uygun olmayan hijyenik koşullar, sıkışık ve kalabalık barındırma, uzun süren nakiller, tedavi amacıyla yanlış ilaç ve doz seçimi gibi faktörlerle birleştiğinde patojenitesini artırmakta ve hastalığa sebebiyet verebilmektedir.

Pasteurella cinsi içinde ilk olarak *Pasteurella multocida* türü kümes hayvanlarının kolera infeksiyonlarından izole edilmiştir. Daha sonra fenotipik karakterlerine göre

Pasteurella haemolytica, *Pasteurella pneumotropica*, *Pasteurella gallinarum*, *Pasteurella urae* ve *Pasteurella aerogenes* tanımlanmıştır. *Pasteurella* cins ismi bir İtalyan kontu olan *Trevisan* tarafından, tavuk kolerası üzerindeki çalışmalarından dolayı *Louis Pasteur*'e ithafen verilmiştir (Mutter ve ark 1989).

Mannheimia pneumotropica (*Pasteurella pneumotropica*), rodentlerin solunum ve genital sistem enfeksiyonlarına, apselere ve mastitislere yol açarken, *Pasteurella aerogenes* ise kobay, tavşan ve insanların hastalıklı materyallerinden izole edilmektedir (Manning ve ark 1989).

Mannheimia haemolytica (*Pasteurella haemolytica*) başlıca koyun ve kuzuların pnömoni ve septisemilerinden (Gilmour ve Gilmour 1989), sığırların ise pnömonilerinden (Frank 1986) sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca koyun ve sığırlarda mastitislere neden olmaktadır (Gilmour ve Angus 1983, Radostits ve ark 1994).

Pasteurella cinsi içinde *P. multocida* dünyada ki yaygın dağılımı ile önemli bir hayvan ve fırsatçı insan patojenidir (Hunt ve ark 2000). *P. multocida* bir çok hayvan türlerinin nasopharenks'inde kommensal olarak bulunan Gram negatif basil (kokobasil) şeklinde bir mikroorganizmadır. Genelde *P. multocida* hayvan patojeni olarak sekonder enfeksiyonlarda önemli bir rol oynar (Kunhert ve ark 2000). *P. multocida*'nın memeliler, kanatlılar ve insanların başlıca solunum sistemlerini içine alan geniş bir konakçıya sahip olduğu bildirilmiştir (Bisgaard ve ark 1994). *Pasteurella multocida*, sığırlarda hemorajik septisemiye (Carter ve De Alwis 1989), pnömoniye, meningoensefalitis ve mastitise (Radostits ve ark 1994), domuzlarda atrofik rinit ve pnömoniye (Chanter ve Rutter 1989), koyunlarda nadir bir şekilde pnömoniye (Gilmour ve Gilmour 1989), laboratuvar hayvanlarında çeşitli enfeksiyonlara (Manning ve ark 1989) sebep olmaktadır. Özellikle üst solunum yolu hastalıklarında etken tek başına hastalığı oluşturabilmesi yanında diğer mikroorganizmalar, viruslar ve bakım koşulları da bu hastalıklara hazırlayıcı faktör olabilirler. Hastalık genelde sığırlarda IBR, BVD gibi viral hastalıklarla kombine seyretmektedir. Mikroorganizma, hayvanın direnci kırıldığı durumlarda patojenitesini artırmakta ve pnömoni tablosunu güçlendirmektedir. Hemorajik septisemi hastalığı ise akut

ve oldukça ölümcül seyreden ve *P. multocida*'nın çeşitli serotiplerinin neden olduğu septisemik bir hastalıktır.

Pasteurellaceae familyasındaki bakteriler gram negatif, fakültatif anaerobik veya mikroaerofilik, kemoorganotrofik, hareketsiz, sporsuz, katalaz, fosfataz ve bazı türler hariç oksidaz reaksiyonları pozitif, küresel, ovoid veya çomak şeklinde mikroorganizmalardır (Christensen ve Bisgaard 1997, Pohl 1981). Nitratları nitritlere indirgerler (Holt ve ark 1994). Metil Red (MR) ve Voges Proskauer (VP) negatiftir. Lysine ve arjinin decarboxylase negatiftir. Glukoz ve diğer fermente edilebilir bileşikleri asit oluşturarak fermente ederler (Pohl 1979, Mutter ve ark 1989).

P. multocida 0.2-0.4 mikron eninde ve 0.5-1.5 mikron uzunluğunda oval, kokoid ve kısa küçük çomaklardır. Nadiren filamentöz yapı gösterir. Gram negatif olup, en iyi metilen mavisi, toluidin mavisi, thionin ve Maygrünwald Giemsa ile boyanırlar. *P. multocida*, aerob veya fakültatif anaerob olup, en iyi 37°C'de ürer. Katı besiyerlerinde M, S, R ve I tipi koloniler oluşturabilir fakat genellikle mukoid (M) veya Smooth (S) koloniler oluştururlar. M koloni formu düzenli, yuvarlak, konveks yapıda görülebildiği gibi daha büyük, geniş, nemli ve yapışkan olarak da bulunabilmektedirler (OIE 1996). M koloni formundaki *P. multocida* suşlarının hepsi kapsüllüdürler ve sığır, insan, tavşan ve domuzların solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilirler. Rough (R) koloni formu nadiren görülmektedir. S koloni formundaki *P. multocida* suşları katı besi yerlerinde yuvarlak, düzgün ve küçük parlak koloniler oluştururlar. *P. multocida*'lar kapsül bulundurabildikleri gibi kapsülsüz olanları da vardır (Arda ve ark 1999, OIE 1996). Kapsüllü suşlar akut olaylardan izole edilirler ve taze suşlar kapsüllüdürler. Koloniler yuvarlak, parlak düzgün ve 1 mm çapındadırlar. Zamanla ortalarında koyu bir saha oluştururlar. Kanlı agarda hemoliz görülmez. İndol pozitifdir. Beta galaksidoz negatiftir. Katalaz ve metilen redüksiyonu pozitifdir. Üreaz negatif olup jelatini eritmez. Nitratları nitrite redükte ederler, H₂S negatiftir ya da nadiren hafif oranda teşekkül eder. Mac Conkey besiyerinde safra tuzu olduğu için üremezler (Arda ve ark 1992, Collee 1970, Smith 1960).

P. multocida yaygın olarak kullanılan dezenfektanlar, güneş ışığı, kuruma veya ısı ile kolayca inaktive olabilen oldukça hassas bir mikroorganizmadır ve denemeler etkenin çevrede (su veya toprakta) en fazla 30 gün canlı kalabileceğini göstermektedirler (Christensen ve Bisgaard 2000, Rimler ve Glisson 1997).

P. multocida, kapsüller ve somatik antijenlerine göre tiplendirilebilmektedir. *P. multocida*'nın A, B, D, E ve F olmak üzere 5 kapsüler serotipi tanımlanmıştır. Ayrıca *P. multocida*'nın 16 somatik serotipi vardır. *P. multocida*'nın serogrup tiplerinin tayininde en önemli rolü bakterinin kapsülü üstlenmektedir. Kapsülün en büyük kısmını polisakkaritler oluştururlar ve bazı durumlarda da lipoproteinler ile ortak bir oluşum izlenir (Seleim 2005). *P. multocida*'nın potogenesisinde rol oynayan kapsül yapısı, fimbria, dış membran proteinleri (DMP), lipopolisakkarit (LPS) endotoksinler, eksotoksinler, multocidin veya sideroforlar, ekstrasellüler enzimler ve plasmidler hakkında kısa bilgilere aşağıda yer verilmiştir:

1.1. Kapsül:

P. multocida'nın seroguplarına göre tiplendirilmesinde en önemli rolü kapsül yapısı üstlenmektedir. Kapsülün en büyük kısmı polisakkaritlerden oluşur. Bakterinin A, B, D, E ve F olmak üzere 5 kapsüler serotipi bulunmaktadır. Her bir serogruptaki suş 16 somatik antijen tipi barındırabilir. Serotip spesifitesinden kapsüler polisakkaritler sorumludur. Kapsüler polisakkarit bakterinin akciğer dokusuna yapışmasından, nötrofillerin fagositozunu engellemekten ve komplement aracılığı ile oluşan lizis'e direnç göstermekten sorumludur. Tip A'nın kapsül yapısını hyaluronik asit ve hyaluronidase enzimini sindirebilen diğer polisakkaritler oluştururlar. Hyaluronik asit antifagositik aktiviteyi engellemez fakat *P. multocida* serotip A'nın yapısına katılan bir protein faktörü(300kDa) sığırlarda fagositik yeteneği inhibe etme yeteneği gösterir. Kanatlı serotiplerinin kapsül yapısı komplementlerin aktivitelerine karşı koruyucu etki sağlar fakat fagositik hücrelerle organizmanın ilişkisi üzerine etkisi yoktur. Kapsüldeki hyaluronik asit kaybı hayvan hücrelerine yapışma kabiliyetini ve hücrenin fagositoza duyarlılığının artmasına yol açar. Bazı araştırmacılar, bu bilginin aksine, kapsüldeki hylaluronik asit kaybının bakterinin

hücre yüzeyleri üzerine ve polisakkarit kapsülüne yapışma kabiliyetinin azalmasına yol açtığını bildirmektedirler (Seleim 1993, Esslinger ve ark 1994, Seleim 1997). *P. multocida*'nın kapsüler materyal üretimi antibiyotiklerin minimum inhibitor konsantrasyonu tarafından etkilenir. Hindilerdeki enfeksiyonlarda görülen kapsüler serotip F'in kimyasal olarak chondrotin yapısında olduğu bildirilmiştir (Champlin ve ark 2002, De-Angelis ve ark 2002). Yapılan araştırmalarda, *P. multocida* suşunun kapsüllü formunun kapsülsüz formlarına oranla daha virulent olduğunu (Boyce ve Adler 2000, Christensen ve Bisgaard 1997) bildirilmiştir.

1.2. Fimbria:

Elektron mikroskobu çalışmaları, tavşan farengial hücreleri, domuzların tonsiller ve nasal hücreleriyle buzağuların nasal ve tracheal hücrelerinden izole edilen *P. multocida*'larda fimbriaların varlığını açıklamıştır. Diğer serotiplere ait suşlarda (B, D ve E) farklı hücre modelleri üzerine (sığır tracheal epitel hücreleri, domuz nasal ve tracheal epitel hücreleri, tavşan nasal ve tracheal epitel hücreleri ve hela hücreleri) çok az yapışma yeteneğinin olduğu gösterilmiştir. *P. multocida*'nın bağlanmasını N-acetyl-D-glucoseamine'in inhibe ettiği bildirilmiştir. Bir amino-şeker olan N-acetyl-D-glucoseamine'in fimbriaya bağlı bir hayvansal hücre reseptörü olabileceğini düşündürmektedir. Pronase, ısı, asidite ve homojenize etme, mikroorganizmanın yapışma kabiliyeti üzerine farklı etkilerde bulunmaktadır. Yapılan çalışmaların sonuçları fimbria ve/veya kapsüler materyalin yapışma işlemindeki katkısını doğrulamaktadır (Seleim 1993, Esslinger ve ark 1994). Domuzlarda bulunan *P. multocida* A serotipi, domuz tracheal hücrelerine D serotipinden daha kuvvetli yapışır ancak bu mikroorganizmanın normal domuz nasal mukozasında kolonize olma yeteneğinin olmadığı görülür. Henüz yeni gelişen enfeksiyonlarda kolonizasyonun yeni olmasından dolayı *P. multocida*'nın toksinojenik serotiplerinde fimbria veya flagella saptanamayabilir (Esslinger ve ark 1994).

1.3. Dış Membran Proteinleri

DMP'ler hücre dışına ve içine moleküllerin taşınmasında, konakçı hücrelerine adhezyonda rol oynamaktadırlar (Squire ve ark 1984). Hemorajik septisemi vakalarında izole edilen *Pasteurella multocida*'larda 40'tan fazla protein bulunan kompleks bir DMP profiline sahip olduğu gösterilmiştir. İzolatların elektroforetik modeli ile serotipik özellikleri arasındaki ilişki olduğu, ancak hemorajik septisemiye neden olan tüm suşlarda sabit bir protein bandı yapısının olmadığı belirlenmiştir. Tüm izolatlarda serotipe bağlı olmaksızın en yaygın DMP lerı 27kDa, 34kDa ve 36kDa'dır. DMP deki başlıca virülens proteinlerinden biri hemoglobin için spesifik reseptör olarak bilinen hemoglobin-binding proteindir. Araştırmacılar tarafından Hemoglobin-binding proteini(hgbA) kodlayan gen belirlenmiş ve dizilimi saptanmıştır (Johnson ve ark 1991, Seleim 1993, Bosch ve ark 2002). Atrofik rinitis vakasında izole edilen suşlarda DMPlerin tip I, II ve III olmak üzere üç farklı tipi saptanmıştır. Bu farklı tipler 28 ve 40kDa arasındaki ağır ve hafif protein bantlarının hareketliliği temel alınarak sınıflandırılmıştır. *P.multocida*'nın ağır proteininin yüzey yerleşimi, peptidoglukan affinitesine, tripsin direnci açısından enterobacter familyasının por proteinlerine benzer yapıda olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte ağır proteinler liposakkaritler ile immunojenik bir kompleks formundadır. DMP deki proteinler ile patojenik suşlar arasındaki ilişkiyi tam olarak saptamak mümkün olmamıştır fakat DMP tip I proteini domuzlardaki akut atrofik rinit vakalarında tip II ve tip III'e göre daha patojenik olduğu tespit edilmiştir. Sığırlarda *P. multocida* tip A serotipinin protein yapısının benzer olduğu görülmüş, protein bant yapılarında çok hafif farklılıklar saptanmıştır (Gadliero ve ark 1998). *P. multocida*'nın DMP lerı hedef hücrelere adhezyonu sağlarlar. Lübke ve ark. (1994) tarafından yapılan araştırma da bir sığır kapsül tip izolatından elde edilen 35 kDa'luk bir proteinin adhezyon faktörü olabileceği belirtilmiştir.

1.4. Lipopolisakkarit Endotoksinler :

LPS başlıca virüent bir faktördür ve Buffalolarda görülen hemorajik septisemi vakalarında esas rolü oynar. Farklı hayvanlardaki *P. multocida* suşlarının incelenmesi ile *P. multocida* suşlarındaki LPS nin Enterobacter familyasındaki LPS lere hafif benzerlik gösterdiğini doğrulamıştır. LPS ler 1-16 somatik serotipin ortaya çıkmasından sorumludurlar ve LPS ler elektroforetik olarak incelendiğinde düşük moleküler ağırlığa sahip oldukları tespit edilmiştir. Tip D'nin neden olduğu atrofik rinit'te *P. multocida* serotiplerinin en az 6 elektroforetik tipte LPS barındırdığı gösterilmiş ve bunların hem belli DMP ler ile hem de serotipin patojenik karakterinin varlığı ya da yokluğu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Serotip A'nın LPS'i ile reaksiyona giren antikorlar domuz ve tavşan infeksiyonlarına karşı koruma sağlamıştır oysa LPS serotip B ile korumada ikinci derecede rol oynar.

Tavuk kolerasından izole edilen kanatlı suşlarının bir dereceye kadar komplement ve serum direncinin olması *P. multocida*'nın hindilerde virülensliğinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Morishita ve ark 1990). Semptom göstermeyen sığırlardaki izolatlarda serum duyarlılığının değişken olduğu görülürken klinik bulgular gösteren sığırlardan yapılan izolatların serum direncinin olduğu saptanmıştır. LPS nin sığır alveoler makrofajlarından TNF- α nın serbest kalmasını uyardığı tespit edilmiştir (Bienhoff ve ark 1992, Horadagoda ve ark 2001, Lax ve Thomas 2002)

1.5. Eksotoksinler :

Pasteurella multocida'nın özellikle kapsüler serotip D'si tarafından üretilen toksinler, dermetonekrotik toksin (DNT) olarak gösterilen etkeni üretmiştir. Saflaştırılmış DNT'nin tahmini moleküler ağırlığı 112 kDa'dan 160 kDa'ya değişen bir proteindir. ve

sonik ve sıvı kültürlerden yeniden elde edilebilir. Dermonekrotize aktivite; embriyonik sığır akciğer hücrelerinde sitotoksositeye, ölümlere, farelerde sümüksü ishal veya dalak atrofisi, domuz, sıçan, tavşan ve keçi gibi bir çok hayvanda turbinate atrofi ve domuz ve sıçanların karaciğerlerinde vaskular endotelyal zarara neden olan toksik bir etki meydana getirir. Bazı yazarlar kemik hücrelerinin farklılaşmasının engellenmesi, osteoklast(Büyüme halindeki kemiğin içinde kemik dokusunu yiyerek iç boşlukları meydana getiren çok nüveli iri hücrelerden biri) aktivitesinin teşvik edilmesi ve osteoblast inhibisyonunda olduğu gibi toksinlerin mitogenik ve öldürücü etkilerini rapor etmişlerdir. Domuzlardaki atrofik rinit aslında burun kemiklerindeki DNT etkisinden kaynaklanmaktadır. (Kamp ve ark 1990, Lax ve Chanter 1990, Lax ve Grigoriadis 2001, Rubies ve ark 2002).

Ticari aşular, formaldehit ile muamele edilmiş tüm hücreleri veya toksijenik mikroorganizmaların formaldehit ile detoksifiye ham bakteriyel ekstraktlarını ihtiva eder. Bundan başka, toksin ve onun genine sekans analizi yapılmıştır ve toksinin rekombinant türevleri aşı gibi etkinliği yönünden test edilmiştir. Saf toksinden hazırlanan toksoidler domuzlardaki solunum atrofilerine ve sıçanlardaki sistemik etkilere karşı etkindir. Toksin üreticisi olarak serotip B, potansiyel aktif toksin üreticisi olarak rapor edilmiştir (Rimler ve Rhoades 1989, Thurston ve ark 1991). DNT domuzlardaki atrofik rinit ile ilişkilendirilmiştir, kanatlı, buzağı, kedi, köpek ve tavşanlar gibi diğer konakçıların da toksinleri ürettiği tespit edilmiştir. Bazı insan izolatları toksijenik olup solunum yolu enfeksiyonlarında rapor edilmiştir (Chrisps ve Foged 1991, Lax ve Grigoriadis 2001, Lax ve Thomas 2002, Rubies ve ark 2002).

1.6. Multocidin veya Sideroforlar :

Demir, *P. multocida*'nın gelişmesindeki en gerekli elementtir. Bakterinin gelişme döneminde organizmadaki demirin yoksunluğu, siderophore (multocidin) olarak fonksiyon gösteren büyümeyi stimüle edici faktör salgılar. Sideroforlar seçici olarak ferric demire bağlanır ve hücre duvarındaki reseptör spesifik demir taşınmasında rol alırlar. *P. multocida* ve *M. haemolytica* tarafından bir kaç tip siderofor sentezlenir. Organizma büyüme işlevi için aynı zamanda sideroforsuz mekanizma ile de demir sağlayabilir. Bu sideroforsuz

demir sağlama yeteneği, 82 kDa luk reseptör protein dahil yüksek moleküler ağırlıktaki demir düzenleyici OMP'lerin üretimi ile ilişkilendirilmiştir. Bu kapasite sığır suşlarında gözlenmiştir, ve sığır transferrin yeteneği ile sınırlıdır. Sideroforlar aynı zamanda hemoglobin bağlayan proteinler ile de ilişkili olabilir fakat buradaki sideroforun protein yapısı, etki mekanizması ve onun gen yapısı farklıdır. (Bosch ve ark 2002).

1.7. Extrasellüler Enzimler :

Lipase, insan ve değişik hayvanlardan izole edilen bir çok *P. multocida* suşlarında gözlenmiştir. Lipase aktivitesi Tween 20, Tween 40, Tween 80 ve Tween 85'te gösterilmiştir. Bu organizma için potansiyel virülens faktörler olarak düşünülen bir kaç lipase sepharose 2B kolonu ile ayrıştırılmıştır. Hyaluronidase *P. multocida* tarafından üretilen diğer bir enzimdir. Bunun üretimi tip B suşları ile sınırlı gözükmemektedir ve bunun üretimi hemorajik septisemi vakalarından izole edilen suşların virülensi ile ilişkilidir. Bununla beraber neurominidase aktivitesi farklı patojenik türleri ihtiva eden bir çok serotiplerde tespit edilmiştir. Yüksek neurominidase üretimi ile yüksek patojenite birbirini desteklemektedir. Kanatlı suşlarının hücreler arası enzimatik aktividen yoksun oldukları rapor edilmiştir. Fakat farklı türlerde hücreler arası enzimlerin salgılanması için yüksek virülense sahip pek çok gen identifiye edilmiştir (Carter ve Chengappa 1980, Fuller ve ark 2000, Pratt et ve ark 2000, Ramdani ve Adlet 1991).

1.8. Plasmidler:

Çeşitli hayvan türlerinden izole edilen *P. multocida*'lardan plasmidler elde edilmiştir. Bu plasmidler bir çok toksinin üretimi ve antibiyotik direnci (R faktörü) ile ilgilidir. Plasmid ihtiva eden kanatlı suşları, özellikle kanatlı izolatlarına özgü komplement direnci ile ilişkilidir. Plasmidin profili, *P. multocida*'nın virülens marker'ı olduğu kadar aynı fenotipten farklı suşların ayrılmasında gerekli olan epidemiyolojik araç olduğu düşünülmektedir. *P. multocida* plasmidlerle elektroporasyon (bakteriyel transformasyona

neden olan ve bakteri hücre duvarına uygulanan kısa elektrik şoku) işlemi vasıtası ile kolayca taşınabilir (Jablonski ve ark 1992, Rubies ve ark 2002).

Solunum sistemi hastalıklarının klinik tanısı kolaydır. Ancak etkin bir tedavi yapabilmek, hastalığı kontrol altına almak ve gerekli koruyucu tedbirleri alabilmek için etiyojik tanının yapılması gereklidir. Etiyojik tanı için burun svabı, trakeobronşial lavaj sıvısı veya akciğer doku örneklerinin bakteriyolojik muayenesi gereklidir (Aslan ve ark 1998, Leloğlu ve Erdoğan 1979, Levy ve ark 1994, Erdağ ve ark 1993).

Pastörolloz'un teşhisi kültür ve serolojik testler ile yapılmaktadır. Kültür en güvenilir teşhis metodudur. Ancak uzun zaman alması, kontaminasyon problemi, saf kültür elde etmenin zor olması gibi dez avantajları vardır (Townsend ve ark 1998). Primer izolasyon genellikle kanlı agar, dextrose strach agar veya trypticase soy agar gibi besi yerleri kullanılarak yapılmaktadır. İzolasyon %5 koyun kanı veya sığır kanı ilavesi ile artırılabilir (Chiristensen ve Bisgaard 2000, OIE 1996). Lee ve ark (2000) tavukların sindirim sisteminden *P. multocida*'nın izolasyonu için %10 koyun kanı ilave edilmiş dextrose nişasta agarda polymyxin, kristal violet, thallos acetate, bacitracin ve cycloheximide içeren selektif bir besi yeri geliştirmişlerdir. Bu besi yerinin *P. multocida* izolasyonunda yüksek derecede sensitif olduğunu bildirmişlerdir.

Pasteurella'ların izolasyonu ve identifikasyonunda konvansiyonel metotların uzun zaman alması (yaklaşık bir hafta kadar), kontaminasyon problemi, saf kültür elde etmenin zor olması gibi dezavantajları vardır (Townsend ve ark 1998). Ayrıca bakteriyel etkenlerden ileri gelen bazı enfeksiyonlarda spesifik etkenin her zaman izolasyonu ve identifikasyonu mümkün olmamakta, primer etken yerine sekonder bakteriler izole edilmekte ve hastalığın teşhis ve sağaltımı buna göre yapılmaktadır. Biyokimyasal testlerde kültürler saf olmadığında hatalı sonuçlar alınabilmektedir.

Pasteurella multocida izolasyonunda fare inokulasyon testi de kullanılabilir. Fare inokulasyon metotları çoğu kez diğer mikroorganizmalar ile kontamine olmuş örneklerde *P. multocida*'nın varlığını saptamak için kullanılmaktadır (Kasten ve ark 1997).

Pasteurella türlerinin serolojik teşhisinde bir çok test kullanılmaktadır. Bunlar İndirekt Hemaglutinasyon (IHA), Çabuk IHA, Çabuk Lam Aglutinasyon (Rapid Slayt Aglutinasyon) (Namioka ve Murata 1961), Counter İmmunoelektrophoresis (CIE), Agar Jel Immunodiffüzyon (AGID), Coaglutinasyon testi ve Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) dir (Filion ve ark 1985, OIE 2000).

Pasteurella multocida'nın A, B, D, E ve F olmak üzere 5 kapsüler serotipi tanımlanmıştır. *Pasteurella multocida* serogrup B ve E sığır ve buffalolarda hemorajik septisemi ile ilgilidir (Carter ve Alwis 1989), serogrup A kanatlı hayvanlarda kanatlı kolerasına neden olur, serogrup D ise domuzlarda atrofik rhinitis'le ilgilidir (Boyce ve Adler 2000). Sığır hemorajik septisemisinden Güneydoğu Asya'da B:6, Afrika'da E:6 sorumlu tutulmuştur (Carter ve Alwis 1989), halbuki sığır solunum yolu hastalığı başlıca serogrup A ile ilgilidir.

Batu ve Elverdi (1970) yaptıkları araştırmada, Sakarya, Samsun, Çarşamba, Bafra ve Terme mezbahalarında kesilen sığır ve mandaların nasopharangeal boşluklarından aldıkları 1106 swap örneğinde *Pasteurella multocida* serotiplerini incelemiştir. Araştırma sonuçlarına göre 1106 örnekten 28 adet *P. multocida* identifikasyonu yapılmış ve bunlardan 24'ü yapılan AGID testi sonucunda serogrup B olarak tespit edilmiştir.

Al-Humam ve ark (2004) yaptıkları bir çalışmada Suudi Arabistan'da bulunan Al-Ahsa mezbahasında kesime giren buzağılardan rasgele 74 adet, Veteriner eğitim hastanesine gelen ve solunum yolu hastalığı yönünden klinik semptom gösteren buzağılardan ise 326 adet nasopharangeal swap almışlardır. Swaplardan *P. multocida*'ların izolasyon, identifikasyon yapmışlar ve identifiye edilen *P. multocida*'ları Rapid Slayt Aglutinasyon ve de Agar Gel Immunodiffusion teknikleri ile serotiplendirmişlerdir.

Çalışma sonuçlarında mezbahadan alınan 74 örnekten 3 (% 4,1), hastaneden alınan 326 örnekten ise 7 (% 2,15) olmak üzere toplam 10 adet *P. multocida* identifikasyonu yapılmıştır. İzole edilen 10 adet *P. multocida*'nın 4 (% 50)'ü tip A, 2 (% 25)'si tip C ve 2 (% 25)'si de tip E olarak tiplendirilmiştir.

Son yıllarda bakteriyel hastalıkların teşhisinde bakteriyolojik ve serolojik metotlara alternatif olarak geliştirilen çabuk, sensitif ve spesifik bir moleküler biyolojik metot olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) tekniği kullanılmaktadır. *P. multocida*'nın tespiti için DMP geninden hazırlanan primerlerin kullanıldığı bir PZR tekniği sunulmuştur (Neumann ve ark 1998). Kamp ve ark (1996) tox A geninden hazırlanan primerlerin kullanılması ile toksijenik *P. multocida* suşlarını tespit etmek için tanımladıkları PZR testinin çok sensitif ve etkili bir metot olduğunu rapor etmişlerdir. Fakat PZR tekniği uygulanması günümüzde bir çok laboratuarda araştırma için kullanılmasına rağmen rutin teşhis laboratuvarlarında maliyetinin yüksekliği nedeni ile çok tercih edilmemektedir.

Sığır pnömonilerinde çeşitli bakteriyel ve viral etkenlerin izole edildiği bildirilmektedir. Houghton ve Gourlay (1984) pnömonili sığır akciğerlerinden % 30,0 oranında *M. haemolytica*'yı, ve % 3,0 oranında *P. multocida*'yı izole etmişlerdir. Allan ve ark. (1985), pnömoni nedeniyle ölen veya kesilen buzağuların, akciğerlerinden % 73,0 *M. haemolytica*, % 15,8 ise *P. multocida* izole etmişlerdir.

Konya bölgesinde buzağular üzerinde yapılan bakteriyolojik çalışmalarda pnömonili akciğerlerden *Pasteurella*'lar % 12-24, *Staphylococcus spp.* % 12-24, *E. coli* % 13,3, *Klebsiella pneumonia* %4-30, *Str. spp* % 9-16,6 ve *C. pyogenes* % 4-15 oranlarında izole edilmiştir (Kaya ve ark 1993, Turgut ve ark 1989, 1992).

Türkiye'de ölüme neden olan buzağı pnömonilerinin incelendiği bir çalışmada Girgin ve ark (1989), pnömonili buzağı akciğerlerinden izole ettikleri etkenler arasında *E. coli*'nin % 37,8 ile ilk sırayı *Pasteurella* türlerinin ise % 18,0 ile ikinci sırayı aldığını bildirmişlerdir.

Hazıroğlu ve ark (1997) 1995 Mart ile 1996 Haziran ayları arasında pneumoni lezyonu görülen 100 adet buzağı üzerinde yürüttükleri bir çalışmada lezyonlu akciğerlerden 42'sinde *M. haemolytica*, 8'inde *P. multocida* ve 10 adedinde de *H. somnus* bakteriyel etkenlerini, vakaların 7'sinde hem *M. haemolytica* hem de *H. somnus*'u, 2'sinde ise hem *M. haemolytica* hem de *P. multocida*'yı izole etmişlerdir.

Şahin (1997) Kars yöresinde pnömonili sığır akciğerlerinden % 50,0 *M. bovis*, % 33,33 *M. bovirhinis*, % 16,66 *M. arginini*, % 20,75 *M. haemolytica*, % 15,09 *P. multocida*, % 28,30 *E. coli*, % 15,09 *Staphylococcus spp.*, % 13,20 *Streptococcus spp.*, % 5,66 *Bacillus spp.* ve % 1,88 *Actinomyces spp* oranlarında farklı mikroorganizma türlerini izole etmiştir. Konya bölgesinde Gündüz ve Erganiş (1997)'in yaptıkları bir çalışmada % 15,9 *P. multocida*, % 14,1 *M. haemolytica*, % 12,1 *E. coli*, % 11,2 *Corynebacterium spp.*, % 10,3 *Staphylococcus spp.*, % 9,1 *Streptococcus spp.*, % 3,5 *Klebsiella spp.* ve %, 2,3 oranında *Pseudomonas spp.* izole edilmiştir. Dinler (1998)'in yaptığı çalışmada pnömonili sığır akciğerlerinden % 5,9 *M. haemolytica*, % 4,5 *P. multocida*, % 14,5 *Staphylococcus spp.*, % 10,5 *Corynebacterium spp.*, % 10,0 *Klebsiella spp.*, % 10,0 *E. coli*, % 7,7 *Streptococcus spp.* izole edilmiştir. Hazıroğlu (1997)'nin yapmış olduğu çalışmada ise % 48,0 *M. haemolytica* ve % 8,0 *P. multocida* izole edilmiştir.

Tegtmeier ve ark (1999)'nın Danimarka'da, Bronkopnömoni ve pnömoni tablosu gösteren hastalıklı buzağılar üzerinde yapmış oldukları bir araştırmada 72 örnek toplamışlar ve bu 72 örnekte viral ajanlar ile birlikte seyreden olgulardan 35 adet bakteriyel patojen izole etmişlerdir. Bu bakteriyel patojenler ise; 11 adet *H. somnus*, 10 adet *P. multocida*, 9 adet *A. pyogenes*, 4 adet *P. haemolytica*, 2 adet *S. dublin*, 2 adet *E. coli*, 1 adet *Staphylococcus aureus* ve 1 adet de *Streptococcus uberis* olmak üzere bir dağılım göstermiştir. Enfekte akciğerlerden çoğu yalnızca bir bakteri ile enfekteyken 4'ünün hem *P. multocida* hem de *A. pyogenes* ile birinin ise *H. somnus* ve *S. dublin* ile birlikte 2 tür bakteri barındırmakta olduğu belirtilmiştir.

Sığırlarda görülen solunum yolu enfeksiyonlarına karşı viral ve bakteriyel ajanlardan korunmanın en geçerli yolu aşılama olarak kabul edilmektedir. Enfeksiyondan korunmak amacıyla bilinen virüslere karşı yapılacak aşılanmanın hastalığın şiddetini ve insidansını azaltacağı bildirilmektedir fakat hastalığı oluşturan çok sayıda viral etkenin bulunması bu işi zorlaştırmaktadır. Bunun yerine hastalığın ölümcül seviyelere ulaşmasını sağlayan *Pasteurella* türlerine karşı yapılacak aşılanma çalışmalarının oldukça yararlı olduğu ifade edilmektedir (Frank GH 1989).

Pasteurella türlerinin neden olduğu hastalıklardan korunmada aşılanmanın yararı kadar sağaltımda da antimikrobiyal ilaç kullanımının önemi büyüktür.

Veteriner Hekimlerin hasta sağaltımında, Antibiyotiklere karşı olan direnç en büyük problemlerden biridir. Bu problemin kaynağı ise antimikrobiyal ilaçların genellikle çok yüksek dozlarda ve hatalı seçimlerinden kaynaklandığı belirtilmektedir (Catry ve ark 2003). Antibiyotiklerin kullanım sürelerine uyulmaması, yüksek dozlarda uygulanması, hatalı ürün seçimi, uygulama sıklığı, hedef mikroorganizma yerine çok sayıda patojene karşı geliştirilen geniş spektrumlu antibiyotiklerin sık sık uygulanması gibi problemler hem hayvan sağlığını hem de ekonomik yönden yetiştiriciyi oldukça kötü yönde etkilemektedir. Üst solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin etiyolojik yönden uygun olup olmadığına bakılmaksızın seçilmeleri ve dozalara uyulmamasının son üründe ilaç kalıntılarına neden olduğu da unutulmamalıdır.

Hastalıklı hayvanlarda nasal örnekleme ve solunum sisteminin derinliklerinden alınan örneklerin, antibiyotiklere karşı olan duyarlılıklarının incelendiği çalışmada, kullanılan buzağuların % 70'inde akciğerlerden alınan *Pasteurella* örnekleri ile nasal alınan örnekler arasında genetik benzerlikler tespit edilmiştir. Hasta hayvanlardaki nasal, intratracheal ve akciğerlerden alınan *Pasteurella*'lara karşı yapılan antibiyogramların da birbiri ile aynı sonuçları verdiği ortaya konmuştur. Araştırma sonucunda solunum yollarının herhangi bir bölgesinden yapılacak örneklemenin akciğerlerde oluşan veya oluşabilecek bir enfeksiyonu temsil ettiği bildirilmektedir (Derosa ve ark 2000).

Solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde özellikle geniş spektrumlu antibiyotikler, sulfonamidler veya bunların kombinasyonları etkilidir (Howard 1986). Akgül ve ark (Akgül ve ark 1995), pneumonili buzağılarda tilmicosinin, Picavet ve ark. (Picavet ve ark 1991), ise tilmicosin ile linkomisin + spektinomisin kombinasyonlarının, Gruenau (Gruenau 1992) bronkopnömonili buzağı ve besi danalarında tilmicosin, procainpenisilin, gentamisin ve linkomisin+spektinomisin kombinasyonlarının, Aslan ve ark (Aslan ve ark 1998), enzootik pnömonili danalarda penisilin + streptomisin kombinasyonlarının, Gül ve ark (Gül ve ark 1999) ise enzootik pnömonili dana ve kuzularda amoksisilin uygulamalarının etkili olduğunu bildirmektedirler.

Yoshimura ve ark (2001)'nin, sığır ve domuzlardan izole edilen *P. multocida*'ların antibiyotik duyarlılıkları üzerine yapmış oldukları çalışmada 72 adet sığır *P. multocida* izolatu için 10 farklı antibiyotik (benzylpenicillin, aspoxicillin, ceftifour, dihydrostreptomycin, kanamycin, oxytetracyclin, doxycyclin, tilmicosin, thiamphrnicol, enrofloxacin) kullanarak ($\leq 0,025 - 0,1 \mu\text{g/ml}$ aralığında) Agar Dilüsyon Metodu ile MIC (Minimum Inhibitory Concentration) değerlerini tespit etmişlerdir. Araştırma sonucunda 72 isolattan 12'si benzilpenisiline orta düzeyde duyarlı (MIC'leri: 1,56 – 3,13 ünite/ml) veya direçli (MIC'leri: 12,5 – 24 ünite/ml) bulunmuştur. Bu 12 isolat aynı zamanda aspoxicillin'e de orta düzey duyarlı (Mik'leri: 0,78 – 3,13 ünite/ml) ve dirençli (MIC'leri: 12,5 – 25 ünite/ml) tespit edilmiştir. Ceftiofur izolatların % 90'ında oldukça yüksek MIC değerlerinde ($0,1 \mu\text{g/ml}$) duyarlı bulunmuştur. İzolatlar, aminoglycosid'lere diğer antimikrobiyal ajanlara nazaran daha az düzeyde tepki vermişlerdir. Doxycillin, oxytetracyclin'e göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Diğer antimikrobiyal ajanlar içerisinde en iyi sonuçları ise enrofloxacin, en fazla direnç gösteren antimikrobiyal ajanlar ise dihydrostreptomycine ve benzylpenicillin olarak tespit edilmiştir.

Welsh ve ark (2004)'nin yapmış oldukları bir araştırmada, 1994 ve 2002 yılları arasında Amerika Oklahama'da bulunan hayvan hastalıkları teşhis laboratuvarına gelen ve 6-18 aylık hastalıklı buzağı akciğerlerinden izole edilen 160 adet *P. multocida*'nın antibakteriyel duyarlılıklarını ve yıllara göre bakterinin izolasyon miktarını kontrol etmişlerdir. Araştırma sonuçlarında 1994 yılından 2000 yılına kadar her sene kliniğe gelen vakalarda *P. multocida* yönünden bir artış gözlemlenmiş, 2001 ve 2002 yıllarında ise bir

miktar düşüş yaşanmıştır. İzole edilen *Pasteurella multocida*'ların antimikrobiyallere olan duyarlılıkları yıllara göre hesaplandığında, ampicillin için % 76 – 100 arası hayli değişken, ceftiofur, cephalothin ve enrofloxacin için % 96 – 100 arası stabil, trimethoprim/sulfamethoxazole için % 93 – 99 arası stabil, tetracycline için % 23 – 74 arası değişen yüzdelerde tespit edilmiştir.

Son zamanlarda orta veya yüksek yoğunlukta çalışan mikrobiyoloji laboratuvarlarında bir çok yeni otomatize bakteri identifikasyon cihazları geliştirilmiş ve kullanıma sunulmuştur. Bu sistemler hem hastalar hem de hekimler açısından bir çok avantajı da beraberinde getirmektedir. Kullanılmakta olan otomatize sistemler kalite standartlarına uygunlukları, zamandan sağladıkları tasarruf, standardize olmaları ve doğru sonuçlar vermeleri açısından günden güne yaygınlaşmaktadırlar (Barenfanger ve ark 1999, Doern ve ark 1994). Fransa Biomerieux tarafından bakteriyel identifikasyon amaçlı üretilen Vitek II cihazı'nda günümüzde bir çok referans laboratuvar tarafından kullanılmaktadır. Bu cihazda gram negatif, gram pozitif mikroorganizmalar ve mayaların identifikasyonu yapılabilmektedir. Vitek II gram negatif identifikasyon kartının değerlendirilmesi için yapılan bir çalışmada 331 adet gram negatif mikroorganizma kullanılmış ve bunların % 97'sinde başarılı sonuçlara ulaşıldığı belirtilmiştir (Wallet ve ark 2005).

Bu çalışmada, Aydın ve İzmir illerinde önemli ekonomik kayıplara neden olabilecek Hemorojik septisemi ve Üst solunum yolu hastalıklarına sebebiyet veren *P. multocida*'nın, hangi kapsüller serotiplerinin daha etkin olduğunun belirlenmesi ve etkenin duyarlı olduğu antibiyotiklerin tespiti ve aşı geliştirme çalışmalarında yardımcı olunması hedeflenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Örnekler

Bu çalışmada, *Pasteurella multocida* izolasyonu amacıyla kullanılan toplam 570 adet sığır intratracheal svabın 350 adedi İzmir ilinde, 220 adedi ise Aydın ilinde bulunan mezbahalardan temin edildi. İntratracheal svaplar, hayvanlar kesimleri sonrasında sığırların trachealarına steril olarak yapılan kesitlerden alınmıştır. Örneklerin tamamı 1 yaş ve üstü sığırlardan temin edilmiştir. Alınan svap örnekleri ADÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Rutin Teşhis laboratuvarına soğuk zincir altında getirildi.

2.1.2. Standart *P. multocida* Suşları

P. multocida'nın 5 serotipinden olan A (7320), B (7372) ve D (6985) serotipleri Çek Cumhuriyeti'ndeki National Institute of Public Health enstitüsünden temin edilmiştir. Fakat çalışmada kullanılması hedeflenen E ve F serotiplerine ise hiçbir yurtiçi ve yurtdışı kaynaktan ulaşılamadığı için bu iki serotip tiplendirmede kullanılmamıştır.

2.1.3. Deney Hayvanları

Standart *P. multocida* suşlarından antiserum hazırlamak amacıyla her bir suş için 3'er adet olmak üzere 1,5 – 2 kg ağırlığındaki Yeni Zelanda tavşanlarından 9 adet, kullanılmıştır. Yeni Zelanda tavşanları Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Deneme Hayvanları Yetiştirme Biriminden sağlanmıştır.

2.1.4. Antibiyotik Standartları

Flourphenicol, Oxytetracycline, Enrofloxacin, Amoxicillin - Clavulanic acid, Gentamycin, Erythromycin, Sulphamethoxazole – Trimethoprim etken maddeleri içeren antibiyotiklerin enjektabel formları piyasadan temin edilerek dilüsyonların hazırlanmasında kullanılmıştır.

2.1.5. Besi Yerleri

2.1.5.1. İzolasyon Besi Yerleri

2.1.5.1.1. Kanlı Agar Base (Merck 1.10886)

Blood agar.....40 g.

Distile su.....100 ml

Karışımın pH'sı 7,2 – 7,4'e ayarlanıp, 15 dakika otoklav edildikten sonra, 50 °C'ye kadar soğutulup, içine %7 oranında steril defibrine koyun kanı ilave edildi (Mutter ve ark 1989).

2.1.5.2. İdentifikasyon Besiyerleri

2.1.5.2.1. Mac Conkey Agar (Oxoid CM 115)

Pasteurella spp. şüpheli bakterilerin 18-24 saatlik saf kültürlerinden, bir koloni alınarak Mac Conkey agara pasaj yapıldı ve 37 °C’de 48 – 72 saat inkube edildi ve bu süre sonunda agardaki üremeye göre değerlendirme yapıldı.

2.1.5.2.2. Oksidasyon ve Fermentasyon Besiyeri (OF)

Peptone.....	2g
Sodium Chloride.....	5g
K ₃ HPO ₄	0,3g
Bromthymol.....	0,3g
Agar.....	0,3g
Distile su.....	1000 ml

Karışımın pH’sı 7,2’ye ayarlandıktan sonra, 15 dakika otoklav edildi. Daha sonra 55 °C’ye kadar soğutulup, % 10’luk steril glukoz solusyonundan, son konsantrasyonu % 1 olacak şekilde ilave edilip, aseptik şartlarda tüplere (13x100 mm) 5’er ml dağıtıldı (Bilgehan 1992).

2.1.5.2.3. Lassen’in Üçlü Tüpü

Gram negatif bakteri identifikasyonunda kullanıldı (Lassen 1975).

2.1.5.2.4. Brain Heart Infusion Broth – BHIB (Oxoid CM 225)

P. multocida serotiplerinden ve saha izolatlarından antijen hazırlanmasında kullanıldı.

2.1.5.2.5. İndol Test Ortamı

Peptone..... 4 g
Sodium chloride..... 2 g
Distile su..... 100 ml

Karışımın pH'sı 7,2 – 7,4'e ayarlandıktan sonra, tüplere 3 – 5 ml dağıtıldı ve 15 dakika otoklavda sterilize edildi (Bilgehan 1992).

2.1.5.2.6. Nitrat Test Ortamı

Peptone..... 2 g
KNO₃..... 0,2 g
Distile su..... 1000 ml

Karışım kaynayan benmaride eritildikten sonra, 10 ml olacak şekilde tüplere dağıtılıp 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi (Beşe 1969).

2.1.5.3. Antibiyotiklere Duyarlılık Testinde Kullanılan Besiyerleri

2.1.5.3.1. Tyriptide Soya Broth – TSB (Oxoid CM 129)

Antibiyotiklere duyarlılığı belirlenecek saha izolatlarının kolonilerinin homojen hale getirilmesinde kullanıldı (Allan ve ark 1985).

2.1.5.3.2. Mueller – Hinton Agar (Oxoid CM 0337)

Mueller – Hinton agar.....38 g
Distile su.....100 ml

Karışımın pH'ı 7,4'e ayarlandı. 15 dakika otoklav edildikten sonra, 55 °C'ye kadar soğutulup, içine % 5 oranında defibrine koyun kanı ilave dildi (Allan ve ark 1985).

2.1.6. Ayıraçlar

2.1.6.1. İndol Ayıracı (Kovaks ayıracı) (Bilgehan 1992)

P – Dimethylaminobenzadehyde..... 10 g
Isoamyl alcohol..... 150 ml
Hcl (konsantre)..... 50 ml

2.1.6.2. Nitrat ayıraçları (Beşe 1969)

A indikatörü

Sulhanilic acid..... 0,8 g
5 N acetic acid..... 100 ml

B indikatörü

Dimethyl-alpha-naphthylamine..... 0,6 g
5 N acetic acid..... 100 ml

2.1.7. Solüsyonlar

2.1.7.1. Formollü (% 0,3) Fosfat Buffer Tuz Solusyonu

Fosfat tampon eriyiği

0,2 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 28 ml
0,2 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 72 ml

Yukarıdaki şekilde hazırlanan eriyikten bir kısım, % 8,5'lik NaCl eriyiğinden dokuz kısım alınarak karıştırıldı. Daha sonra karışıma % 36 – 38'lik formalinden % 0,3 oranında ilave edildi (Bilgehan 1992).

2.1.8. Otomatize İdentifikasyon Sistemi

Otomatize identifikasyon amacıyla Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde bulunan Vitec II Compact (Fransa – Biomerioux) cihazı kullanılmıştır. Koloni morfolojisi, mikroskopik bakışında Mac Conkey agarda üreme/ürememe durumuna göre *Pasteurella* şüpheli mikroorganizmalar Vitec II Compact cihazının gram negatif bakteri identifikasyonunda kullanılan identifikasyon kartları ile cihaza verilmiş, yaklaşık 12-24 saat cihazda ki inkübasyon periyodundan sonra sonuçlar alınmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Mikrobiyolojik Muayene

2.2.1.1. Örneklerden *Pasteurella* İzolasyonu

Mezbahalarda kesim sonrası sığır akciğerlerine ait trachealarından alınan svap örnekleri soğuk zincir altında laboratuara getirildi ve % 7 lik kanlı agara ekimleri yapıldı. Besiyerleri 37 °C'de 24 – 48 saat inkübe edildi (Mutter ve ark 1989)

2.2.1.2. İzole Edilen Suşların İdentifikasyonu

İzolasyon besiyerinde üreyen bakterilerin koloni morfolojileri, hemoliz özellikleri ve gram boyama özellikleri incelenerek, Çizelge 2.1 de belirtilen kriterlere göre *Pasteurella multocida* türünün identifikasyonuna gidildi (Carter 1984)

Çizelge 2.1: *Pasteurella* türlerinin identifikasyonunda kriterler (Carter 1984)

Biyokimyasal Özellikler	<i>P. multocida</i>	<i>P. haemolytica</i>	<i>P. urea</i>	<i>P. pneumotropica</i>	<i>P. aerogenes</i>
Gram boyama	negatif	negatif	negatif	negatif	negatif
Hemoliz	negatif	pozitif	negatif	negatif	negatif
İndol	pozitif	negatif	-	pozitif	negatif
Üreaz	negatif	negatif	pozitif	pozitif	pozitif
Nitrat	pozitif	pozitif	negatif	pozitif	pozitif
Oksidaz	pozitif	pozitif	pozitif	pozitif	pozitif
Mac Conkey üreme	negatif	pozitif	negatif	negatif	pozitif

Koyun kanlı agarda 24 – 48 saat inkübasyon sonucu üreyen kolonilerin hemoliz özellikleri incelendi. Gram negatif üreyen bakterilerin kolonileri; *P. multocida* ve diğer gram negatif bakterilerin identifikasyonu yönünden, kanlı agarda saf kültürleri hazırlanıp, Lassen'in üçlü besiyerine geçildi. *Pasteurella spp.* şüpheli koloniler, oksidaz, nitrat redüksiyonu, indol oluşumu, üreaz aktivitesi ve Mac Conkey agarda üreme durumlarına göre identifikasyona gidildi (Tablo 1). Klasik yöntemler ile *Pasteurella multocida* olarak identifiye edilen bakteriler Vitek II cihazı gram negatif identifikasyon kiti ile bakıldı.

2.2.1.2.1. Gram Boyama ve Hemoliz Özelliğinin Belirlenmesi

Koyun kanlı agarda 24 – 48 saat inkübasyon sonucu üreyen kolonilerin hemoliz özellikleri incelendi. Hemoliz özelliği göstermeyen gram negatif, bipolar görümlü basiller *P. multocida* yönünden identifikasyona tabi tutuldu.

2.2.1.2.2. Oksidaz Testi

Gram boyamada negatif sonuç veren bakterilerin oksidaz aktiviteleri, oksidaz diski (Bacto, 1633-35-2) ile ölçüldü. Şüpheli bakterinin 18 – 24 saatlik saf kültüründen platin öze ile alınan birkaç koloni oksidaz diskine yayılarak sürüldü. 25 – 30 saniye içinde diskin

pembe – mor bir renk alması “pozitif”, renk değişikliğinin olmaması “negatif” olarak değerlendirildi (Koneman 1997).

2.2.1.2.3. İndol Testi

Şüpheli bakterinin saf kültürü İndol test ortamına ekildi ve 37 °C’de 5 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, indol ayırıcından 3 – 5 damla tüpün yan tarafından akıtılarak, üst tarafta bir tabaka oluşturulması sağlandı. Besiyeri ve ayıraç arasında kırmızı bir rengin oluşması “pozitif”, renk değişikliğinin oluşmaması ise “negatif” olarak değerlendirildi (Bilgehan 1992)

2.2.1.2.4. Üreaz Testi

Lassen’in 3. tüpüne, şüpheli mikroorganizmanın saf kültüründen, 1 koloni geçilerek 18 – 22 saat 37 °C’de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, besiyerinin renginin kırmızı olması “pozitif”, renk değişikliğinin görülmemesi ise “negatif” olarak değerlendirildi (Lassen 1975)

2.2.1.2.5. Nitrat Testi

İçinde nitratlı buyyon bulunan tüplere, şüpheli mikroorganizmanın saf kültüründen, birkaç koloni ekildi ve 37 °C’de 5 gün inkübe edildi. Daha sonra buyyonun üzerine nitrat ayıraçlarından (Solüsyon A, Solüsyon B), 1’er ml dökülerek, besiyerinin renginin kırmızı veya kiremit kırmızısı olması “pozitif” olarak kabul edildi (Beşe 1969)

2.2.1.2.6. Mac Conkey Agarda Üreme

Pasteurella şüpheli bakterilerin 18 – 24 saatlik saf kültürlerinden, bir koloni Mac Conkey agara pasaj yapılarak, 37 °C’de 48 – 72 saat inkübe edildi. Bu sürenin sonunda, agardaki üreme gözlenerek, üreyen/üremeyen koloniler, Pasteurella türleri yönünden değerlendirildi (Wessman ve Hilker 1968, Biberstein 1978)

2.2.1.2.7. Vitec II Cihazı ile Identifikasyon

Gram boyama ve Lassen’in üçlü tüpünden sonra Pasteurella şüpheli mikroorganizmalar Vitec II Compact cihazının gram negatif bakteri identifikasyonunda kullanılan identifikasyon kartları ile cihaza verildi, yaklaşık 12-24 saat cihaz da ki inkübasyon periyodundan sonra sonuçlar okundu.

2.2.2. İzole Edilen *P. multocida* Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılık Testi

P. multocida izolatlarının gecelik subkültürlerinden alınan koloniler 0,5 Mc Farland bulanıklığına eşit olacak şekilde serum fizyolojik içerisinde hazırlandı. Besi yeri olarak Müller-Hinton agar kullanıldı. Bakteri inokulumları steril plastik özelerle 0,0312 – 256 mg/L antibiyotik içeren agar plaklarına ekildi. Her antibiyotik için antibiyotik içermeyen kontrol agar plağı hazırlandı. Plaklar 35 °C’de 24 saat inkübe edildi. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) gözle görülür üremenin olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu olarak tanımlandı. Antibiyotik duyarlılık sınırları NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003) M100-S13’e göre okundu. İzolatların %50’sini inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK50, %90’nını inhibe eden en düşük konsantrasyon ise MİK90 olarak tanımlandı. Kontrol suşu olarak standart *P. multocida* suşları kullanıldı.

2.2.3. İzole Edilen *P. multocida* Suşlarının Kapsüler Özelliklerine Göre Serotiplendirilmesi (OİE 2000)

2.2.3.1. Standart Serotiplerden Antijen Hazırlanması

Her bir serotip öncelikle 6 – 8 saat Brain Hearth Infusion Broth'da üretildi. Daha sonra sıvı besi yerinden kanlı agarlara ekimleri yapıldı ve bir gece 37 °C lik etüv'de inkübasyona bırakıldı. Bir gece sonunda üreyen koloniler daha önceden FTS ile hazırlanan, % 0,3'lük formalin içine alındı. Bu süspansiyon önce 56 °C'lik su banyosunda 30 dakika bekletildi. Su banyosundan sonra +4 °C'de 15 dakika 3000g'lik devirde santrifüje edildi. Santrifüj işlemi sonucunda tüplerdeki süpernatantlar alındı kullanıma kadar – 20 °C'de saklandı. Bu süpernatant'lar antijen extract'ı olarak kullanıldı. (OIE, 2000)

2.2.3.2. Standart Serotiplerden Hiperimmün Antiserum Hazırlanması

Serotiplendirmede kullanılacak hiperimmün antiserum eldesi işleminde genellikle tavşanlar kullanılmaktadır. Kullanılacak olan mikroorganizma öncelikle 6 – 8 saat Brain Hearth Infusion Broth'da üretildi ve üreyen serotiplerden kanlı agara ekimler yapıldı. 37 °C bir gecelik inkübasyon (yaklaşık 18 – 20 saat) aşamasından sonra üreyen koloniler % 0,3'lük formalin içeren FTS ile yıkandı. Mikroorganizma süspansiyonlarının bulanıklığı MacFarland Tüp No: 4'e eşdeğer olacak şekilde ayarlandı.

Hazırlanan bu süspansiyondan tavşanlara 4'er gün ara ile kulak venasından olacak şekilde damar içi yolla sırasıyla 0,2 – 0,5 – 1,0 – 1,5 ve son olarak da 2 ml miktarında verildi. Son aşama olarak 7 gün sonra formalin kullanılmadan aynı şekilde hazırlanan canlı mikroorganizma süspansiyonundan 0,5 ml deri altı yolla enjekte edildi. 10 gün sonra tüm tavşanların kanları alındı. Kan serumları – 20 °C'de saklandı (OIE, 2000).

2.2.3.3. Saha Suşlarından Antijen Hazırlanması

Saha çalışmaları sırasında elde edilen ve *P. multocida* olarak identifikasyonu tamamlanan her bir bakteri bölüm 2.2.3.1 de belirtildiği üzere, öncelikle 6 – 8 saat Brain Hearth Infusion Broth'da üretildi. Daha sonra sıvı besi yerinden kanlı agarlara ekimleri yapıldı ve bir gece 37 °C lik etüv'de inkübasyona bırakıldı. Bir gece sonunda üreyen koloniler daha önceden FTS ile hazırlanan, % 0,3'lük formalin içine alındı. Bu süspansiyon önce 56 °C'lik su banyosunda 30 dakika bekletildi. Su banyosundan sonra +4 °C'de 15 dakika 3000g'lik devirde santrifüje edildi. Santrifüj işlemi sonucunda tüplerdeki süpernatantlar alındı kullanıma kadar – 20 °C'de saklandı. Bu süpernatant'lar antijen extract'ı olarak kullanıldı (OIE, 2000).

2.2.3.4. Rapid slayt aglütinasyon (RSA) tekniği ile saha suşlarının serotiplendirilmesi

Koyu renkli bir zemin üzerine bir damla FTS damlatıldı. Üzerine serotiplendirmesi istenen tek bir koloni alındı ve bir damla antiserum ilave edilerek dikkatli bir şekilde karıştırıldı. Karışım 30 saniye içinde verdiği foliküler aglütinasyon'a göre değerlendirildi (OIE, 2000).

2.2.3.5. Agar Gel İmmundiffusion (AGID) Tekniği ile Saha Suşlarının Serotiplendirilmesi

Son konsantrasyonu 1/10000 olacak şekilde merthiolate katılarak hazırlanan 0,2 M'lık Fosfat Buffer'a % 1,0 oranında Noble agar ilave edilerek hazırlanan besi yeri 0,8 mm kalınlığında petrilere döküldü. Kullanılacak olan antiserum ve antijen extractları bölüm 2.2.3.2 ve 2.2.3.3 te belirtildiği üzere hazırlandı. Petrideki besi yerleri 6 mm çapında ve birbirinden 3 mm uzaklıkta delindi. Standart antiserum ortadaki kuyucuğa, pozitif, negatif ve teste tabi tutulan antijenler ise kenardaki kuyucuklara kuyucuğu taşırmayacak

şekilde damlatıldı. Petriler, nemli ortamda, 37°C’de 48 saat inkube edildi. Test materyali ile standart antiserum arasında oluşan presipitat pozitif olarak değerlendirildi (OIE, 2000).

3. BULGULAR

3.1. Örnekler

Araştırmada, *Pasteurella multocida* izolasyonu amacıyla kullanılan toplam 570 adet sığır intratracheal svabının 350 adedi İzmir ilinde, 220 adedi ise Aydın ilinde bulunan mezbahalardan temin edildi.

3.2. Mikrobiyolojik Muayeneler

İzmir ve Aydın illerinden alınan 570 adet örneğin 28 (%4,9)'inden *P. multocida* izolasyon ve identifikasyonu yapıldı. İzmir ilinden alınan 350 örnekten 18 adet (% 5,14) ve Aydın ilinden alınan 220 örnekten 10 adet (% 4,54) *P. multocida* izolasyon ve identifikasyonu yapıldı.

***Pasteurella multocida*'nın biyokimyasal özellikleri**

İzole edilen *Pasteurella multocida* suşlarının hiçbiri koyun kanlı agarda hemoliz özelliği göstermemişlerdir. Suşların indol, oksidaz testleri ve nitrat reduksiyonu pozitif, üreaz aktiviteleri negatif bulundu. İzole edilen *Pasteurella multocida* suşlarının hiçbiri Mac Conkey agarda üreme göstermemiştir.

Otomatize sistemle *Pasteurella multocida* identifikasyonu

Mezbahalarda temin edilen örnekler Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji rutin teşhis laboratuvarına getirildi. Kanlı agarlara ekimleri ve inkübasyonlarından sonra koloni morfolojisi *Pasteurella spp.*'ye benzeyen örneklerin, gram boyama sonucunda gram negatif olanları saflaştırıldı. Saflaştırılan suşların biyokimyasal testlerle identifikasyonları yapılırken, aynı zamanda paralel olarak da besi yerlerinde Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne getirildi. Burada suşlar kanlı agarlara ekilip 18 – 24 saatlik bir gecelik inkübasyondan sonra gram negatif bakteri identifikasyon kartı ile Vitek II Compact cihazına verildi. Cihazda ortalama bir gecelik inkübasyon süresinden sonra sonuçlar okundu.

3.3. İzole Edilen *Pasteurella multocida* Suşlarının Kapsüler Yönden Serotiplendililmeleri

Çalışmada izole edilen 28 adet *Pasteurella multocida* suşu RSA (Rapid Slayt Aglutinasyon) ve AGID (Agar Gel Immundifusion) metodları ile 3 adet serotip(A, B ve D)'e ait serumlar kullanılarak serotiplendirildi.

Yapılan çalışmada 28 adet saha suşunun 15 (% 53,6)'i tip B, 10 (% 35,7)'u tip A ve 1 (% 3,5)'i de tip D olarak tespit edildi. İzolatlardan 2 (% 7,2)'si ise tiplendirilememiştir.

3.4. İzole Edilen *Pasteurella multocida* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılık Testi Bulguları

Yapılan çalışmada izole edilen 28 *P. multocida* suşlarının MİK değerleri tespit edildi. Uygulanan test sonucunda *P. multocida* suşlarının % 93 oranında flourphenicol'e , % 61 oranında enrofloxacin'e, % 54 oranında oxytetracycline'e duyarlı olduğu bulundu.

P. multocida suşlarının tümünün erythromycine ve sulphamethaxazole – trimethoprim’e % 82 oranlarında, gentamycine’e % 64 oranında ve amoxycilline - clavulanic acid’e ise % 61 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir. Yapılan antibiyogramlar sonucunda oxytetracycline, amoxycilline - clavulanic acid, erythromycine ve Sulphamethaxazole – trimethoprim MİK 50 değerlerinin 4 mg/L olduğu görülmüştür. Bununla beraber erythromycine, gentamycine ve sulphamethaxazole – trimethoprim’in MİK 90 değerlerinin 16 mg/L olduğu tespit edilmiştir. flourphenicol’ün MİK 50 değerinin 0,25 mg/L ve MİK 90 değerinin 0,5 mg/L olması önem arz etmektedir.

Araştırmada kullanılan antibiyotiklerin MİK değerleri Çizelge 3.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1: Araştırmada kullanılan antibiyotiklerin MİK değerleri ve duyarlılıkları

Antibiyotik	MİK mg/L			
	Aralık	MİK 50	MİK 90	Duyarlılık (%)
Flourphenicol	0,0312 – 64	0,25	0,5	93
Oxytetracycline	1 – 256	4	32	54
Enrofloxacin	0,125 – 8	1	4	61
Amoxycilline - Clavulanic Acid	0,25 – 4	4	4	39
Sulphamethaxazole – Trimethoprim	0,25 – 128	4	16	18
Gentamycine	2 – 256	8	16	36
Erythromycine	0,25 – 16	4	16	18

4. TARTIŞMA

Sığırlarda görülen solunum sistemi hastalıkları tüm dünyada sığır yetiştiriciliğinde önemli kayıplara yol açmaktadır. Sığırların karşı karşıya kaldıkları çevre koşulları, beslenme şartları ve çeşitli stres faktörleri solunum sistemi hastalıklarının oluşmasında önemli rol oynamaktadır (Frank 1986, Yates 1982).

Ruminantların pnömonik infeksiyonları, Veteriner Hekimlikte bilinen en kompleks patogeneze sahip hastalıkların başında gelmektedir. Bu enfeksiyonların oluşumunda etken, konakçı ve çevre koşulları çok yakından ilişkilidir. Solunum yolu hastalıklarından dolayı Kuzey Amerika da her yıl sığırların en az % 1'inin öldüğü ve bu hayvanlardan en az % 10'un da morbidite, kilo kaybı ve performans düşüklüğü yaşandığı bildirilmiştir (Davies 1985, Gilmour ve Angus 1983). Sığırlarda görülen pnömoni olgularında bir çok bakteriyel ve viral etken rol oynamaktadır. Viral etkenler içinde respiratory syncytial virüs, parainfluenza tip 3 virüs ve adeno virüs'ler tek başına hastalığı ortaya çıkartabilmektedir (Thomas ve ark 1986, Castleman ve ark 1991, Jubb ve ark 1993). *Mycoplasma*'lar ve *Chlamydia*'lar da hastalıkta önemli bir rol oynamaktadırlar (Gourlay ve Houghton 1985, Thomas ve ark 1986, Jubb ve ark 1993, Adegboye ve ark 1995) fakat vakaların çoğunda hastalığın ana etkeni *P. haemolytica*, *P. multocida* ve *H. somnus* olarak bildirilmektedir (Haritani ve ark 1987, Harris ve Janzen 1989, Haritani ve ark 1990, Jubb ve ark 1993). Solunum sistemi hastalıklarının şiddetlenmesine ve bazen de ölümcül olarak seyretmesine özellikle *P. multocida* ve *P. haemolytica* sebep olmaktadır (Frank 1986, Yates 1982).

Sığır pnömonilerinin yayılışı genel olarak ülkeler ve bölgeler arasında farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar coğrafi şartlara, hayvanların yaşına, cinsiyetine, ırklarına,

bireysel dirençlerine, beslenme durumuna ve buldukları yerin hijyenik şartlarının farklılığına bağlıdır. Pnömoni oranını % 65,83'lere kadar bildiren araştırmacılar (Haritani ve ark 1990) olmakla birlikte, çok sayıda materyal kullanılarak yapılan çalışmalarda (Alexander ve ark 1989, Özer 1985, Özer 1987, Rosenquist ve Dobson 1974) bu oranın % 5 ile 9,5 arasında değiştiği dikkat çekmektedir. Oranın yüksek (% 40) çıktığı çalışmada materyal sayısı genellikle düşük olup, araştırmalar sadece belirli sayıda hayvan popülasyonu üzerinde gerçekleştirilmiştir (Caldow ve ark 1988, Haritani ve ark 1990; Thomas ve Swan 1973). Ayrıca bu sınırlı sayıdaki gruplarda, hayvanların genel olarak sağlıklı olması veya bulaşıcı bir hastalık etkisi altında bulunması gibi nedenlerle de oran olduğundan daha düşük yada daha yüksek çıkabilir. Genel olarak pazarlama ve yetiştirilmede kullanılan metotlar da hastalığın şiddetine katkıda bulunabilir ve hayvanları hastalığa karşı duyarlı hale getirebilir. Yine pnömonilerin sıkça görüldüğü İngiltere, Kuzey Amerika, Kanada gibi ülkelerde iklimin hastalıkta önemli rol oynadığı ve özellikle pnömoni oranının yüksek oranda bulunduğu İngiltere gibi ılıman ve nemli iklime sahip ülkelerde ruminantların önemli bir problemi olarak kendini göstermektedir (Bowland ve Shewen 2000).

Sığırlarda pnömoni oranının aylara ve mevsimlere göre dağılımını belirlemek amacıyla yapılan bir epidemiyolojik çalışmada pnömoni oranı yaz döneminde % 16,0, yağışlı aylarda % 21,7 ve kış döneminde de % 23,0 olarak tespit edilmiştir (Maity ve Deb 1991). Aynı çalışmada en yüksek oranın (% 27,7) Kasım ayında ve en düşük oranın (% 13,9) da Haziran ayında olduğu tespit edilmiş ve pnömoni oranının ortalama olarak % 20,1 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışma sığırlarda pnömoni oranının mevsimlere göre önemli ölçüde değişebileceğini ve kış aylarında daha yüksek bir oran ile seyrettiğini saptamıştır.

Pasteurella multocida'nın sığırlarda sebebiyet verdiği diğer bir önemli hastalık ise Hemorajik septisemidir. Hemorajik septisemi sığır ve bufalolarda akut, yüksek derecede ölümcül ve septisemik olarak seyreden ve özellikle *P. multocida*'nın Asya ve Afrika (B ve E) serotiplerinin neden olduğu bir hastalıktır (Bain ve ark 1982, Carter ve De Alwis 1989, De Alwis 1984, 1992). Hemorajik septisemi, Asya ülkelerinde Şap hastalığından sonra gelmekte, büyük ekonomik kayıplara sebebiyet vermektedir (Bhalla 1997).

Hazıroğlu ve ark (1997) 1995 Mart ile 1996 Haziran ayları arasında pneumoni lezyonu görülen 100 adet buzağı üzerinde yürüttükleri bir çalışmada lezyonlu akciğerlerden 42'sinde *P. haemolytica*, 8'inde *P. multocida* ve 10 adedinde de *H. somnus* bakteriyel etkenlerini, vakaların 7'sinde hem *P. haemolytica* hem de *H. somnus*'u, 2'sinde ise hem *P. haemolytica* hem de *P. multocida*'yı izole etmişlerdir. Diğer bir araştırmada pnömonili sığırların akciğerlerinden % 6 oranında *P. multocida* izole edildiği bildirilmiştir (Houghton ve Gourlay 1984) Allan ve ark(1985)'nin yapmış oldukları bir çalışmada % 15,8 *P. multocida* izole edildiği bildirilmektedir. Erzurum'da ise pnömonili sığır akciğerlerinden % 4,5 oranında *P. multocida* izole edilmiştir (Dinler 1998). Gündüz ve Erganiş Konya'da yaptıkları bir araştırmada *P. multocida* izolasyon oranının % 15,9 olduğunu tespit etmişlerdir (Gündüz ve Erganiş 1998). Elazığ'da yapılan diğer bir çalışmada Sığır akciğerlerinden bakteri izolasyonlarında % 6 oranında *P. multocida* izolasyonu yapılmıştır (Kılıç 2003).

Araştırmamızda İzmir ilinden alınan 350 örnekte 18 adet (% 5,14) ve Aydın ilinden alınan 220 örnekte 10 adet (% 4,54) *P. multocida* izolasyon ve identifikasyonu yapılmıştır. Toplam identifikasyon sayısı ise 570 örnekte 28 (% 4,9) olarak tespit edilmiştir. Bu oranlar Ülkemizin diğer bölgelerinde yapılan araştırmalar ile paralellik göstermektedir (Hazıroğlu ve ark 1997, Dinler 1998, Kılıç 2003). Araştırma sonuçlarının Konya (Gündüz ve Erganiş 1998) bölgesinde yapılan araştırma ile paralellik göstermemesi ise Konya'daki iklim koşullarının özellikle *P. multocida* için Aydın ve İzmir illerindeki iklim koşullarına nazaran daha uygun olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Batu ve Elverdi (1970) yaptıkları araştırmada, Sakarya, Samsun, Çarşamba, Bafra ve Terme mezbahalarında kesilen sığır mandaların nasopharangeal boşluklarından aldıkları 1106 swap örneğinde *Pasteurella multocida* serotiplerini incelemişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre 1106 örnekte 28 (% 2,53) adet *P. multocida* identifikasyonu yapılmış ve bunlardan 24'ü yapılan AGID testi sonucunda serogrup B olarak tespit edilmiştir.

Purdy ve ark (1996) tarafından ABD'de yapılan bir araştırmada 50 adet *P. multocida* identifikasyonu yapılmış ve bunların 42 adedi serotip A olarak belirlenmiş, 8

adedi ise tiplendirilememiştir. Al-Humam ve ark (2004) Suudi Arabistan'da yaptıkları bir çalışmada 400 adet örnek sığır akciğer swap örneğinden 10 adet *P. multocida* identifiye etmişler ve bununda 4 adedini tip A, 2 adedini tip C, 2 adedini tip E olarak tiplendirmişler diğer 2 adedini ise tiplendirememişlerdir. De Rosa ve ark (2000) ise sığır solunum yollarından 4 adet *P. multocida* identifiye etmişler ve bunların 3 adedini serotip A olarak tespit etmişler, bir adedini ise tiplendirememişlerdir.

Aydın ve İzmir illerinde yapılan araştırmamızda toplam 28 adet *P. multocida* izolatu kullanılmış olup, bunlardan 15 (% 53,6) adedi serotip B, 10 (% 35,7) adedi serotip A ve bir (% 3,5) adedi de serotip D olarak tiplendirilmiştir. Suşlardan 2 (% 7,2)'si ise tiplendirilememiştir.

De Rosa ve ark., (2000) ABD'de yaptıkları bir çalışmada *P. multocida* izolatlarının 7 çeşit antibiyotiğe (Ampicilline, Ceftiofur, Erythromycine, Spectinomycine, Trimethoprim-sulfamethoxazole ve Flourphenicol) karşı MIC değerlerini tespit etmişler ve spectinomycine haricindeki diğer antibiyotiklerde düşük MIC değerleri ile karşılaşmışlardır *P. multocida* izolatlarının Ceftiofur'a duyarlı olduğu bildirilmektedir.

Biswas ve ark (2004), Hemorajik septisemi ile ilgili Hindistan'da yaptıkları bir çalışmada sahadan izole ettikleri *P. multocida* izolatlarını sulphadiazin'e karşı dirençli bulmuşlardır. Çalışmada kullanılan diğer antibiyotikler ise mikroorganizmaya vermiş oldukları duyarlılık sırasına göre amikacin, gentamicine, ciprofloxacine, erytromycine, streptomycine, nitrofurantoin, oxytetracycline ve enrofloxacine olarak sıralanmaktadır.

Wallmann (2006), yapmış olduğu araştırmada çeşitli patojen bakterilerin antibiyotik direçliliklerini MIC değerleri yardımı ile tespit etmiştir. Araştırma sonuçlarına göre sığırlardan elde edilen *P. multocida* izolatları Nalidixic acid'e (% 10,6), Enrofloxacin'e (% 1,5), Cefoperazon'a (% 3), Cefotaxim'e (% 6,8) ve Ceftiofur'a (% 1,5) oranında dirençli bulunmuştur. Wallmann bu araştırma sonucunda Almanya'da yaklaşık

olarak 15 yıl kadar sonra Veteriner alanda Flouroquinolon ve cephalosporon'lara karşı patojen bakterilerin dirençlilik geliştirebileceği görüşünü savunmaktadır.

Grobbe ve ark., (2007) Sığır ve domuzlardan elde edilen *P. multocida* izolatları ile Veteriner fluoroquinolone'lar arasında MIC değerlerini hesaplayarak bir karşılaştırmada bulunmuşlar ve sonuç olarak Enrofloxacin ve onun bir metaboliti olan ciprofloxacin'in yüksek in vitro antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

Araştırmamızda 28 adet *P. multocida* suşunun % 93,0 oranında Flourphenicol'e, % 61,0 oranında Enrofloxacin'e, % 54,0 oranında oxytetracycline'e duyarlı olduğu bulundu. *P. multocida* suşlarının tümünün Erytromycine ve Sulphamethaxazole – trimethoprim'e % 82,0 oranlarında, gentamycine'e % 64,0 oranında ve amoxicilline clavulanic acid'e ise % 61,0 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda *P. multocida* suşlarının Enrofloxacin ve Oxytetracycline'e direnç kazanmaya başladığı ve hatta yaklaşık % 45 – 50 arasında dirençli olduğu görülmektedir.

5. SONUÇ

Sonuç olarak Aydın ve İzmir illerinden toplanan 570 örneğin 28 (%4,9)'inden *P. multocida* izole ve identifiye edilmiştir. Bu 28 *P. multocida* suşunun 15'i serotip B, 10'u serotip A ve 1'i serotip D olarak tiplendirilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda sığır pnömonilerinde *P. multocida* suşlarının da önemli bir rol oynadığı bir kez daha doğrulanmıştır. Tespit edilen *P. multocida* serotip B'nin, diğer serotiplere göre daha yüksek oranda rastlanılmış olması diğer serotiplere göre daha yüksek patojenite kriterlerine sahip olduğunu ispatlamaktadır. Ayrıca bu serotipin belirlenmesi halen uygulanmakta olan veya ileride hazırlanacak aşılarla ciddi oranda katkı sağlayacaktır. Yapılan antibiyogramlar sonucunda ise *P. multocida* suşlarının fluoroquinolone grubunda bulunan antibiyotiklere (eritromycin, siprofloksacin vb.) karşı yoğun bir şekilde direnç kazandığı görülmektedir. Yeni bir etken madde olan florphenicol ise veteriner sahada tedavide kullanılacak bir antibiyotik olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak bu antibiyotiğin de bilinçsiz bir şekilde kullanılması sonucunda *P. multocida* izolatlarının direnç geliştirmesi kaçınılmaz bir sonuç olacaktır. Bundan dolayı, sığır pnömonilerini tedavi etmeye çalışmaktansa bu hastalıktan korunmak için aşı araştırmalarına ağırlık verilmesi ve yeni kombine aşılardan üretilip uygulanmasının ülkemiz ekonomisi açısından faydalı olacağı düşünülmektedir.

ÖZET

Aydın ve İzmir Bölgesindeki Sığırlardan *Pasteurella multocida*'nın İzolasyonu, Tiplendirilmesi ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları

Bu çalışmada, *Pasteurella multocida* izolasyonu amacıyla kullanılan toplam 570 adet sığır intratracheal svabının 350 adedi İzmir ilinde, 220 adedi ise Aydın ilinde bulunan mezbahalardan temin edildi.

Araştırmada kullanılan 570 adet örneğin 28 (%4,9)'inden *P. multocida* izolasyon ve identifikasyonu yapıldı. İzmir ilinden alınan 350 örnekten 18 adet (% 5,14) ve Aydın ilinden alınan 220 örnekten 10 adet (% 4,54) *P. multocida* izolasyon ve identifikasyonu yapılmıştır.

Yapılan çalışmada 28 adet saha suşunun 15 (% 53,6) adedi tip B, 10 (% 35,7) adedi tip A ve 1 (% 3,5) adedi de tip D olarak tespit edildi. İzolatlardan 2 (% 7,2) adedi ise tiplendirilememiştir.

P. multocida suşlarının % 93,0 flourphenicole'e, % 61,0 enrofloxacine'e, % 54,0 oxytetracycline'e duyarlı olduğu bulundu. *P. multocida* suşlarının tümünün erytromycine ve sulphamethaxazole – trimethoprim'e % 82,0, gentamycine'e % 64,0 ve amoxycilline clavulanic acid'e ise % 61,0 oranlarında dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pasteurella multocida*, izolasyon, identifikasyon, tiplendirme

SUMMARY

The Isolation, Serotyping and Antimicrobial Susceptibility of *Pasteurella multocida* strains in cattle in the region of Aydın and İzmir

In this study, a total of 570 intratracheal swabs were examined for the *Pasteurella multocida* isolation that were taken 350 of from İzmir region slaughterhouse and were taken 220 of from Aydın region slaughterhouse.

P. multocida was identified from 28 (4,9%) of 570 intratracheal swabs that were examined in this study. *Pasteurella multocida* was identified from 18 (5,14%) of 350 in İzmir region and 10 (4,54) of 220 in Aydın region.

In the study, a total of 28 field *Pasteurella multocida* strains were serotyped as ; 15 (53,6 %) type B, 10 (35,7%) type A and 1 (3,5%) type D, respectively. Of 2 *Pasteurella multocida* strains were untypeable.

The *Pasteurella multocida* strains were found to be susceptible to Flourphenicol (93,0 %), Enrofloxacin (61,0 %), Oxytetracycline (54,0 %) and were found to be resistant to Erythromycin (82,0 %), Sulphamethoxazole-Trimethoprim (82,0 %), Gentamycin (64,0 %) and Amoxicillin-Clavulanic acid (61,0 %).

Key words: *Pasteurella multocida*, isolation, identification, serotyping

KAYNAKLAR

Adegboye DS, Halbur PG, Cavanaugh DL, Werdin RE, Chase CCL, Miskimins DW (1995) *Immunohistochemical and pathological study of Mycoplasma bovis-associated lung abscesses in calves*. J Vet Diag Invest. 7:333 – 337

Akgül Y, Tanrıtanır P, İçen H (1995) *Bronkopnömonili buzağuların sağaltımında farklı Tilmicosin dozlarının etkisi*. Y.Y.Ü. Sağ. Bil. Derg., 1, 12-20

Alexander BH, Mac Vean DW, Rutter JM (1989) *Risk factors for lower respiratory tract disease in a cohort of feedlot cattle*. JAVMA. 195(2): 207-211

Al-Humam NA, Al-Dughaym AM, Mohammed GE, Housawi FM, Gameel AA (2004) *Study on the isolation and Pathogenicity of Pasteurella multocida Type A in calves in Suudi Arabia*. Pakistan Journal of Biomedical Science 7(4): 460-463

Allan EM, Wiseman A, Gibbs HA, Selman IE (1985) *Pasteurella species isolated from the bovine respiratory tract and their antimicrobial sensitivity patterns*. Vet Rec 117:629 – 631

Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Akay Ö (1992) *Özel mikrobiyoloji. Epidemiyoloji, Bakteriyel ve mikotik infeksiyonlar*. Atatürk Üniv. Yay. No: 741, Ders kitapları serisi No: 1, Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum

Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS (1999) *“Fakültatif Anaerobik Gram Negatif Çomaklar” Özel Mikrobiyoloji*. Aydın ., (Editör) No. 26, Medisan Yayın Serisi, Ankara

Aslan V, Maden M, Hadimli HH (1998) *Dana enzootik pnömonilerinin etiyolojisi ve Penisilin + Streptomisin kombinasyonu ile tedavisi*. Bültendif, Sayı: 11, 4-7

Bain RVS, De Alwis MCL, Carter GR, Gupta BK (1982) *Haemorrhagic Septicaemia*. FAO Animal Production and Health Paper No. 33. FAO, Rome, Italy

Barenfanger, J, Drake C, Kacich G (1999) *Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing*. J. Clin. Microbiol. 37:1415-1418

Batu A, Elverdi R (1970) *Türkiye’de sığır ve mandalardan izole edilen Pasteurella serotiplerinin tayini*. Pendik Vet. Kont. ve Araşt. Enst. Derg. I, II: 50-60

Beşe M (1969) *Mikrobiyolojide kullanılan Biyokimyasal Testler ve Besiyerleri*. AÜ Veteriner Fakültesi Yayınları 298 AÜ Basımevi, Ankara

Bhalla NP (1997) *Important disease of dairy cattle*. In: Dairy India, (PR Gupta Publications, New Delhi), 323 – 329

Biberstein EL (1978) *Biotyping and serotyping of Pasteurella Haemolytica*. In “Methods in Microbiology” Ed by T Bergen and RJ Norris, 253 – 267, Academic Press Inc New York

Bienhoff SE, Allen GK, Berg JN (1992) *Release of tumor necrosis factor–alpha from bovine alveolar macrophages stimulated with ovine respiratory viruses and bacterial endotoxins*. Vet. Immunol. and immunopathol. 30: 341–357

Bilgehan H (1992) *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları İZMİR

Bisgaard M, Frederiksen W, Mannheim W, Mutters R (1994) *Zoonoses caused by organism classified with Pasteurellaceae*. In Handbook of Zoonoses 2nd . (Editor) CRC Press, Boca Raton. 203-208

Biswas A, Shivachandra SB, Saxena MK, Kumar AA, Singh VP, Srivastava SK (2004) *Molecular variability among strains of Pasteurella multocida isolates from an outbreak of hemorrhagic septicaemia in India*. Vet Res Comm., 28(2004): 287 – 298

Bosch M, Garrido ME, Perez De Rozas AM, Badiola I, Barbe J (2002) *Characterization of Pasteurella multocida hgbA gene encoding hemoglobin binding protein*. Infect. Immun. 70(11): 5955-5964

Bowland S L, Shewen P E (2000) *Bovine respiratory disease: commercial vaccines currently available in Canada*. Can Vet J. 41: 33-48

Boyce JD, Adler B (2000) *The Capsule is a virulence determinant in the pathogenesis of Pasteurella multocida M1404 (B:2)* Infect and Immun. 68(6): 3463-3468

Caldow GL, Edwards S, Nixon P, Peters AR (1988) *Associations between viral infection and respiratory disease in young beef bulls*. Vet Record 122: 529-531

Carter G, Chengappa MM (1980) *Hyaluronidase production by type B. P. multocida from cases of hemorrhagic septicaemia* J. clin. Microbiol. 11. 94-96

Carter GR (1984) *Genus I Pasteurella* In “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology” Vol Ed by NR Krig and JG Holt, 553 – 556, Williams and Wilkins, Baltimore

Carter GR, De Alwis MCL (1989) *Haemorrhagic septicaemia* In “*Pasteurella and Pasteurellosis*”. Ed. by Adlam and JM Rutter, 131-160, Academic Press Inc. New York

Castleman WL, Northrop PJ, McAllister PK (1991) *Replication of parainfluenza tip-3 virus and bovine respiratory syncytial virus in isolated bovine type-II alveolar epithelial cells.* Am J Vet Res. 52, 880 – 885

Catry B, Laevens H, Devriese LA, Opsomer G, Kruif A (2003) *Antimicrobial resistance in livestock.* J Vet Pharmacol Therap. 26, 81–93

Champlin FR, Shryock TR, Patterson CE, Austin FW, Ryals PE (2002) *Prevalence of a novel capsule-associated lipoprotein among pasteurellaceae pathogenic in animals.* Curr. Microbiol. 44(4): 297-301

Chanter N, Rutter JM (1989) *Pasteurellosis in pigs and the determinants of virulence of toxigenic P. multocida.* In “*Pasteurella and Pasteurellosis*”. Ed. by Adlam and JM Rutter, 161-169, Academic Press Inc. New York

Chrisps CE, Foged NT (1991) *Induction of pneumonia in rabbits by use of a purified protein toxin from P. multocida.* Am. J. Vet. Res. 52, 56-61

Christensen JP, Bisgaard M (1997) *Avian Pasteurellosis: taxonomy of the organisms involved and aspects of pathogenesis.* Avian Pathology. 26: 461-483

Christensen JP, Bisgaard M (2000) *Fowl cholera.* Rev Sci Tech Off Int Epiz. 19(2): 626-637

Collee JG (1970) *Pasteurella.* Medicinal Microbiology. Cruickshank, R.; Duguid, J. P.; Swain, R. H. A. Eleventh Edition. E. and S. Livingstone Ltd., Edinburgh and London, p.: 272 – 277

Davies DH (1985). *Aetiology of pneumonia of young sheep.* Preg Vet Microbiol Immun. I: 229-248

De Alwis MCL (1984) *Haemorrhagic septicaemia in cattle and buffaloes.* Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 3, 707–730

De Alwis MCL (1992) *Haemorrhagic septicaemia – a general review*. Br. Vet. J., 148, 99–112

De Angelis P, Gunay N, Toida T, Mao W, Linhardt R (2002) *Identification of capsular polysaccharides of type D and F Pasteurella multocida as unmodified heparin and chondroitin, respectively*. Carbohydr. Res. 337 (17): 1547-1548

De Rosa DC, Mechor GD, Staats JJ, Chengappa MM, Shryock TR (2000) *Comparison of Pasteurella spp. Simultaneously Isolated from Nasal and Transtracheal Swabs from Cattle with Clinical Signs of Bovine Respiratory Disease*, Journal of Clinical Microbiology, January, p. 327-332, Vol. 38, No. 1

Dinler U (1998) *Pnömonili sığır akciğerlerinden Pasteurella multocida'nın izolasyonu ve identifikasyonu*. (Uzmanlık Tezi), Ankara.

Doern, G V, Vautour R, Gaudet M, Levy B (1994) *Clinical impact of rapid in vitro susceptibility and bacterial identification*. J. Clin. Microbiol. 32:1757-1762

Dyer R M (1982) *The bovine respiratory disease complex. A complex interaction of host, environment and infectious factors*. Compend Contin Educ. 4: S296-S304

Erdağ O, Erdoğan I, Türkaslan V, Gürel A (1993) *Buzağı ve dana pnömonilerinde mikoplazma ve bakteriyel etkenlerin izolasyon, identifikasyon ve antibiyotik duyarlılıkları*. Pendik Vet. Mikrob. Derg., 24, 2: 143-148

Esslinger J, Seleimn RS, Herrmann G, Blobel (1994) *Adhesin of P. multocida to Hela Cells and to macrophages of different animal species* Rev. Med Vet . 145: (1) 49 : 53

Fillion LG, Cho HJ, Shewen PE, Raybould TJG, Wilkie BN (1985) *Comparison of serological techniques to measure antibody to Pasteurella haemolytica A1*. Can J Comp Med. 49:99-103

Frank G H (1986) *The role of Pasteurella haemolytica in the bovine respiratory disease complex*. Vet Med. 12: 841-846

Frank G H (1989) *Pasteurellosis of cattle*. In “Pasteurella and Pasteurellosis” (Editor) Adlam C. and Rutter J M. Academic Press Inc. New York. Pp: 197-222

Frederikson W (1989) *Pasteurellosis of man* In “Pasteurella and Pasteurellosis” Ed by C Adlam and JM Rutter, 303 – 320, Academic Press Inc New York

Fuller TE, Kennedy MJ, Lowery DE (2000) *Identification of Pasteurella multocida virulence genes in a septicemic mouse model using signature-tagged mutagenesis*. Microb. Pathol. 29 (1):25-38

Gadliero M, Palmba E, Vitiello M, Paginini P (1998) *Effects of the major P.multocida porin on bovine neutrophils* Am. J. Vet Res. 59 (10): 1270-1374

Gibbs HA, Allan EM, Wiseman A (1984). *Experimental production of bovine pneumonic pasteurellosis*. Res Vet Sci. 37: 154-166

Gilmour NJL, Angus KW (1983) *Pasteurellosis*. In “Disease of sheep”. Ed. by WB Martin, 3-8, Blackwell Scientific Publication London

Gilmour NJL, Gilmour JS (1989) *Pasteurellosis of sheep*. In “Pasteurella and Pasteurellosis”. Ed. by Adlam and JM Rutter, 223-262, Academic Press Inc. New York

Girgin H, Nedret A, Canbazoğlu M, Aksoy E (1989) *İç Anadolu bölgesinde buzağı pnömonisinde rol oynayan bakteriler ile bunların meydana getirdiği lezyonların patolojik özellikleri*. I. Uluslararası Önemli Buzağı Hastalıkları Sempozyumu. Etlik – Ankara

Gourlay RN, Houghton SB (1989) *Experimental pneumoni in conventionally reared and gnotobiotic calves by dual infection Mycoplasma bovis and Pasteurella haemolytica*. Res Vet Sci 47, 185 – 189

Grobbel M, Lübke-Becker A, Wieler LH, Froyman R, Friederichs S, Filios S (2007) *Comparative quantification of the in vitro activity of veterinary fluoroquinolones*. Vet. Microb. xxx(2007): xxx-xxx, in press.

Gruenau H (1992) *Experiences with Tilmicosin in treatment of enzootic broncopneumonia in farms with beef cattle*. Pract. Tieraerzte, 10, 1-2

Gül Y, Dabak M, Kalandar H, Kızıl Ö, Issi M (1999) *Enzootik pnömonili dana ve kuzularda Amoksisilin ile tedavi denemeleri*. Bültendif, Sayı: 12, 12-15

Gündüz K, Erganiş O (1998) *Pnömonili sığır akciğerlerinden izole edilen Pasteurella haemolytica suşlarının biyotiplendirilmesi ve serotiplendirilmesi*. Veterinarium 9(1): 11-19

Haritani M, Nakazawa M, Oohashi S, Yamada Y, Hazıroğlu Z, Narita M (1987) *İmmunoperoxidase evaluation of pneumonic lesions induced by Pasteurella haemolytica in calves*. Am J Vet Res 48: 1358 – 1362

Haritani M, Nakazawa M, Hashimoto K, Narita M, Tagawa I, Nakagawa M (1990) *İmmunoperoxidase evaluation of the relationship between necrotic lesions and causative bacteria in lungs of calves with naturally acquired pneumonia*. Am J Vet Res 51(12): 1975-1979

Harris FW, Janzen DE (1989) *The Haemophilus somnus disease complex (haemophilosis): A review* Can J Vet Res 30: 816 – 822

Haziroğlu R, Erdeğer J, Gülbahar MY, Kul O (1997) *Association of Pasteurella haemolytica, Pasteurella multocida and Haemophilus somnus with pneumonia in calves.* Dtsch Tierarztl Wschr. 104:125-164

Highlander SK (2001) *Molecular genetic analysis of virulence in Mannheimia (Pasteurella) haemolytica.* Frontiers in Bioscience. 6: 1128-1150

Holt JG, Kreig NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST (1994) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* Ed. by WR. Hensley, 194-196, 281-284, Williams and Wilkins, Baltimore, USA

Horadagoda NU, Hodgson JC, Moon GM, Eckersall PD (2001) *Role of endotoxins in the pathogenesis of haemorrhagic septicaemia in buffalo.* Microb. Pathol. 30 (3): 171-178

Houghton SB, Gourlay RN (1984) *Bacteria associated with calf pneumonia and their effect on gnotobiotic calves.* Res Vet Sci. 37:194-198

Howard JL (1986) *Current Veterinary Therapy 2. Food Animal Practice.* W.B. Saunders Company, Philadelphia

Hunt M L, Adler B, Townsend K M (2000) *The molecular biology of Pasteurella multocida.* Vet Microbiol. 72: 3-25

Jablonski L, Siranganathan N, Boyle SM, Carter GR (1992) *Conditions for transformation of Pasteurella multocida by electroporation.* Microbial. Pathol. 12: 63-68

Johnson RB, Dawkins HJS, Spencer TL (1991) *Electroporetic profiles of P. multocida isolates from animals with haemorrhagic septicaemia.* American Journal of veterinary Research, 52. 1644-1648

Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N (1993) *Pathology of Domestic Animals.* Forth ed., Vol.2 Academic Press, Inc, London, p. 589 – 677

Kamp AM, Kamp EM, Smith MA (1990) *Cloning and expression of the dermonecrotic toxin gene of Pasteurella multocida.* FEMS Microbiol. Letters. 67: 187-190

Kamp EM, Bokken GCAM, Vermeulen TMM, de Jong MF, Buys HECM, Reek FH, Smits MAA (1996) *Specific and sensitive PCR assay suitable for large-scale detection of toxigenic Pasteurella multocida in nasal and tonsillar swabs specimens of pigs.* J Vet Diagn Invest. 8:304-309

Kasten RW, Carpenter TE, Snipes KP, Hirsh DC (1997) *Detection of Pasteurella multocida-specific DNA in turkey flocks by the use of the polimerase chain reaction*. Avian Disease. 41:676-682

Kaya O, Erganiş O, Boynukara B (1993) *Koyun, kuzu ve buzağı pnömonilerinde bakteriyel etioloji ve antibiyogram*. Turk Vet Hek Derg. 5(2):57-60

Kılıç A (2003) *Sığır akciğerlerinden bakeri izolasyonları ve izole Pasteurella'ların Polimeraz Zincir Reaksiyonu(PZR) ile Saptanması* (Doktora Tezi) Elazığ.

Koneman E W, Allen S D, Janda W M, Schreckenberger P C, Winn W C (1997). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Lippincott, New York, Fifth Edition, pp: 104

Kunhert P, Boerlin P, Emler S, Krawinkler M, Frey J (2000) *Phylogenetic analysis of Pasteurella multocida subspecies and molecular identification of feline Pasteurella subsp. Septica by 16S rRNA sequencing*. Int j Med Microbiol. 290: 599-604

Lassen J (1975) *Rapid identification of gram-negative rods using a three-tube method combined with a dichotomic key*. Acta Path Microbiol Scand 33:525 – 533

Lax AJ, Chanter N (1990) *Cloning of the toxin gene from P. multocida and its role in atrophic rhinitis* J. Gen. Microbiol., 136: 81-87. Lo,R.Y.C. (2001): *Genetic analysis of virulence factors of Mannheimia hemolytica A1*. Vet. Microbiol. 83(1): 23-35

Lax AJ, Grigoriadis AE (2001) *Pasteurella multocida toxines: the mitogenic toxin that stimulates signalling cascades to regulate growth and differentiation*. Int. J. Med. Microbiol. 291(4): 261-268

Lax AJ, Thomas W (2002) *How bacteria could cause cancer: one step at a time*. Trends. Microbiol. 10 (6): 293-299

Lee CW, Wilkie IW, Townsend KM, Frost AJ (2000) *The demonstration of Pasteurella multocida in the alimentary tract of chickens after experimental oral infection*. Vet Microbiol. 72:47-55

Leloğlu N, Erdoğan N (1979) *Mikrobiyoloji laboratuvar yöntemleri*. Atatürk Üniv. Yay. No: 549, Ders kitapları serisi No: 37, Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum

Levy JA, Conrat HF, Owens RA (1994) *Virology*. Third edition, Prentice Hall Englewood Cliff's, New Jersey

Lübke A, Hartmann L, Schröder W, Hellmann E (1994) *Isolation and partial characterization of the major protein of the outer membrane of Pasteurella haemolytica and Pasteurella multocida*. Zentralblatt für Bakteriologie. 281: 45-50

Maity B, Deb P (1991) *Seasonal variation in incidence of pneumonia in cattle*. Indian J. of Animal Sci. 61(3): 261-262

Manning PJ, DiGiacoma RF, DeLong D (1989) *Pasteurellosis in laboratory animals*. In "Pasteurella and Pasteurellosis". Ed. by Adlam and JM Rutter, 263-302, Academic Press Inc. New York

Martin SW (1983) *Factors influencing morbidity and mortality in feedlot calves in Ontario*. Vet. Clin. N. Am. (Large Anim. Pract.) 5:74-86

McKercher D G (1968) *Bovine Respiratory Infections*. JAVMA. 152 (6): 7729-7737

Morishita TY, Snipes KP, Carpenter TE (1990) *Serum resistance as an indicator of virulence of Pasteurella for turkeys*. Avian Diseases, 34,888-892

Mutter R, Mannheim W, Bisgaard M (1989) *Taxonomy of the group In "Pasteurella and Pasteurellosis"* Ed by C Adlam and JM Rutter, 3 – 34, Academic Press Inc New York

Namioka S, Murata M (1961) *Serological studies of Pasteurella multocida. I: a simplified method of capsular typing of the organism*. Cornell Vet., 51, 498-507

National Committee for Clinical Laboratory Standards (2003). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically - Sixth Edition: Approved Standard M7-A6*. NCCLS PA, SA.2003

Neumann S, Leeb T, Brenig B (1998) *Vergleich Zwischen PCR und Kultureller Untersuchung zum nachweis von infektionen mit Pasteurella multocida beim hund*, Kleintierpraxis 43:69-74

Office International Des Epizooties (OIE) (1996) *Fowl cholera (Avian Pasteurellosis)*. Chapter 3.6.11. In Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, 3rd ed:OIE, Paris. Pp: 572-577

Office International Des Epizooties (OIE) (2000): *Haemorrhagic Septicemia* Chapter Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. 4th Ed. OIE, Paris

Özer H (1985) *Besi danalarında exudative pnömonilerin yayılışı*. Elazığ bölg. Vet. Hek. Odası Dergisi 1(3): 63-70

Özer H (1987) *Besi sığırlarında atipik interstiel pnömonilerin yayılışı*. Fırat Üniv. Sađl. Bil. Derg. 1(1-A):27-34

Pancieria RJ, Corsvet RE (1984) *Bovine Pneumonic Pasteurellosis: Model for Pasteurella haemolytica and Pasteurella multocida induced pneumonia in cattle*. Am J Vet Res. 45(12): 2532-3537

Picavet T, Muylie E, Devriese LA, Gerly J (1991) *Efficacy of Tilmicosin in treatment of pulmonary infections in calves*. Vet. Rec., 125, 400-403

Pohl S (1979) *Reklassifizierung der Gattungen Actinobacillus Brumpt 1910, Haemophilus Winslow et al. 1917 und Pasteurella Trivisan 1887 Anhand Phanotypischer und Molekularer Daten, Insbesondere der DNS. Verwandtschaften bei DNS:DNS Hybridisierung in vitro und Vorschlag Einer Neuen Familie, Pasteurellaceae*. Thesis, Fachbereich Biologie der Philipps Universität Marburg/Lahn

Pohl S (1981) *DNA Relatedness among members of Haemophilus, Pasteurella and Actinobacillus*. In: Kilian M, Frederiksen W. and Biberstein E L., (Editor) "Haemophilus, Pasteurella and Actinobacillus". London, Academic Press Pp: 245-253

Pratt J, Cooley JD Purdy CW, Straus DC (2000) *Lipase activity from strains of Pasteurella multocida*. Curr. Microbiol. 40 (5): 306-309

Prudy WC, Raleigh HR, Collins KJ, Watts DJ, Straus CD (1996) *Serotyping and enzyme characterization of Pasteurella haemolytica and Pasteurella multocida isolats recovered from pneumonic lungs of stressed feeder calves*. Current Microb. Vol. 34 (1997), pp: 224-249

Radostis OM, Blood DC, Gay CC (1994) *Veterinary Medicine. A Textbook of Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. Bailliere, Tindall, London 590-603

Ramdani, Adlet BS (1991) *Opsonic monoclonal antibodies against lipopolysaccharde (LPS) antigens of pastoiurdia multocida and the role of lipopolysaccharides in immunity*. Vet. Microbiol. 26: 335-347

Rimler RB, Glisson J R (1997) *Fowl cholera*. In Disease of Poultry, 10th. (Editor) Calnek B W with Barnes H J., Beard C W, McDougald L R and Saif Y M. Iowa State University Press, Ames. Pp: 143-161

Rimler RB, Rhoades KR (1989) *Pasturella multocida*. In: and Rhoades. K.R. 1989. Pasteurella multocida In. Adham Cm and Rutter, J.M. (eds) Pasteurella and pasteurellosis . Academic \Press . New York 38- 73

Rosequist RB, Dobson AW (1974) *Multiple viral infection in calves with acute bovine respiratory tract disease*. Am J Vet Res 35(3): 363-365

Rubies X, Casal J, Pijoan C (2002) *Plasmid and restriction endonuclease patterns in Pasteurella multocida isolated from swine pyramid*. Vet. Microbiol. 84 (1-2): 69-78

Schiefer B, Ward GE, Moffatt RE (1978) *Correlation of microbiological and histological findings in bovine fibrinous pneumonia*. Vet. Pathol. 15:313-321

Scot PR (1994) *Field study of undifferentiated respiratory disease in housed beef calves*. Vet. Rec., 134, 325-327

Seleim RS (1993) *Adhesive Eigenschaften von P. multocida* Ph.D. Thesis Justus Liebig University, Giessen, Germany

Seleim RS (1997) *Hyaluronic acid mediated adhesion of P. multocida to different host cells*. New Egypt J Med 17(5): 440 – 444

Seleim RS (2005) Review: *Major Pathogenic Components of Pasteurella Multocida And Mannheimia (Pasteurella) Haemolytica Isolated From Animal Origin*. <http://www.priory.com/vet/pasteurella.htm> Eriřim tarihi: 18.10.2006

Smith AL (1960) *The Gram – Negative Bacilli. Carter’s Microbiology and Pathology*. Seventh Edition. The C. V. Mosby Company, p.: 246 – 259

Squire PH, Smiley DW, Croskel RB (1984) *Identification and extraction of Pasteurella haemolytica membrane proteins*. Infection and immunity. 45(3):667-673

şahin M (1997) *Kars yoresinde sığır pnömonilerinden mikoplazmaların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi*. Etlik Vet Mikrob Derg. 9(2): 71-86

Tegtmeier C, Uttethal Aa, Friis NF, Jensen NE, Jensen HE (1999) *Pathological and microbiological studies on pneumonic lungs from Danish calves*. J Vet Med B 46: 693-700

Thomas LH, Swann RG (1973) *Influence of colostrum on the incidence of calf pneumonia*. Vet Record 92: 454-455

Thomas LH, Howard CJ, Scott EJ, Parsons KR (1986) *Mycoplasma bovis infection in gnotobiotic calves and combined infection with respiratory syncytial virus*. Vet Pathol. 23, 571 – 578

Thurtston JR, Rimler RB, Ackermann JR, Cjheville NR, Sacks JM (1991) *Immunity induced in rats vaccinated with toxoid prepared from heart labile toxin produced by Pasteurella. Multocida serogroup D*. Veterinary Microbiology 27, 169-174

Townsend KM, Frost AJ, Lee CW, Papadimitriou JM, Dawkins HJS (1998) *Development of PCR assay for species and type-specific identification of P. multocida isolates.* J Clin Microbiol. 36(4):1096-1100

Turgut K, Erganiş O, Başoğlu A (1992) *Therapeutic effects of enrofloxacin on pneumonic and diarrhoeic calves.* S Ü Vet Fak Derg. 8 (1): 55-57

Turgut K, Erganiş O, Başoğlu A, Çorlu M, Ok M (1989) *Trakeal yıkama örneğinin mikrobiyolojik muayenesi ve klinik önemi.* S Ü Vet Fak Derg. 5(1): 191-197

Wallet F, Loiez C, Renaux E, Lemaitre N, Courcol R (2005) *Performances of VITEK 2 Colorimetric Cards for Identification of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria* J Clin Microbiol 43(9):4402-4406

Wallmann J (2006) *Monitoring of antimicrobial resistance in pathogenic bacteria from livestock animals.* Int J of Medicinal Microb. 296(2006) S2: 81-86

Welsh RD, Dye LB, Payton ME, Confer AW (2004) *Isolation and antimicrobial susceptibilities of bacterial pathogens from bovine pneumonia: 1994 – 2002.* J Vet Diagn Invest 16:426 – 431

Wessman GE, Hilker G (1968) *Characterization of Pasteurella haemolytica isolates from the respiratory tract of cattle.* Can J. Comp. Med. 32:498 – 504

Whiteley LO, Maheswaran SK, Weiss DJ, Ames TR, Kannan MS (1992). *Pasteurella haemolytica A1 and bovine respiratory disease pathogenesis.* J Vet. internal Med . 6(1): 11-12

Yates WDG (1982) *A review of infectious ovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle.* Can J Comp Med. 46: 225-263

Yoshimura H, Ishimaru M, Endoh YS, Kojima A (2001) *Antimicrobial Susceptibility of Pasteurella multocida isolated from cattle and pigs.* j Vet Med B 48:555-560

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Aydın'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimlerini Aydın'da tamamladı. 1990 yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni kazandı ve 1997 yılında mezun oldu. 1 yıl İstanbul'da küçük hayvan kliniğinde çalıştıktan sonra 1998 yılında Askerlik görevini tamamladı. 1999 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans yapmaya hak kazandı ve Aynı yıl araştırma görevlisi olarak atandı. Araştırma görevlisi kadrosunda çalışmakta iken 1 yıl Amerika Birleşik Devletleri'nde dil eğitimine katıldı. Yüksek Lisans Programı sırasında Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne atandı ve 2002 yılında Yüksek Lisansını tamamladı. Aynı yıl Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora yapmaya hak kazandı. Halen Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Veteriner Biyolojik Ürünler kontrol laboratuvarında çalışmaktadır.

Evli ve İngilizce bilmektedir..

TEŐEKKÜR

Doktora tez konusunun seçimi ve ęalıŐmaların yürütölmesinde yardımlarını esirgemeyen, tez danışmanım Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Faköltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Osman KAYA`ya ve ęalıŐmalarımda desteklerini gördüğüm hocam Yrd. Doę. Dr. Şükrü KIRKAN ve tüm Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Araştırma Görevlilerine, Bornova Veteriner ve Kontrol Araştırma Enstitüsü ęalıŐma arkadaşlarıma, ayrıca tezimin her aşamasında manevi desteğini esirgemeyen eşim Filiz ERBAŐ` a ve tüm aileme teŐekkür ederim.