



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**SAMSUN İLİ VE ÇEVRESİNDEKİ  
KOYUN PNÖMONİLERİNDEN İZOLE EDİLEN  
*MANNHEIMIA* TÜRLERİNİN FENOTİPİK  
KARAKTERİZASYONU VE ANTİBİYOTİK  
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

**YÜKSEKLİSANS TEZİ**

**İlhan ŞAHİN**

**Samsun  
Ocak-2017**





ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
VETERİNERLİK MİKROBİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**SAMSUN İLİ VE ÇEVRESİNDEKİ  
KOYUN PNÖMONİLERİNDEN İZOLE EDİLEN  
MANNHEIMIA TÜRLERİNİN FENOTİPİK  
KARAKTERİZASYONU VE ANTİBİYOTİK  
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

**YÜKSEKLİSANS TEZİ**

**İlhan ŞAHİN**

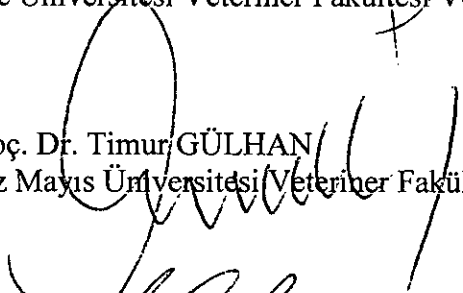
**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Arzu FINDIK**


**Samsun  
Ocak-2017**

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İlhan ŞAHİN tarafından Doç. Dr.Arzu FINDIK Danışmanlığında hazırlanan “Samsun İli ve Çevresinde Koyun Pnömonilerinden izole edilen *Mannheimia* spp.’ nin fenotipik karakterizasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 19/01/2017 tarihinde yapılan sınav ile Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Başkan : Prof. Dr. Murat YILDIRIM  
Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Mikrobiyolojisi ABD

  
Üye : Doç. Dr. Timur GÜLHAN  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Mikrobiyolojisi ABD

  
Üye: Doç. Dr. Arzu FINDIK  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Mikrobiyolojisi ABD

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

19 / 01 / 2017  
Prof.Dr. Ahmet UZUN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konusunun seçimi ve çalışmaların yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen, başta tez danışmanım Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Arzu FINDIK olmak üzere, aynı Anabilim dalında görevli Prof. Dr. Oktay GENÇ, Doç. Dr. Timur GÜLHAN, Doç. Dr. Alper ÇİFTÇİ ve Doç. Dr. Özlem BÜYÜKTANIR YAŐ'a, Anabilim dalındaki yüksek lisans ve doktora yapan diğer öğrenci arkadaşlarıma çalışmalarına vermiş oldukları destekten dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışma, PYO.VET.1904.14.009 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

**Amaç:** Koyun pnömonilerine sebep olan en önemli bakteriyel etkenlerden biri olan *Mannheimia* türlerini izole ederek bu suşların identifikasyonuna yönelik fenotipik karakterlerini ortaya koymak ve tedaviye yönelik en akılcı yaklaşım olan antibiyotik duyarlılıklarını belirlemektir.

**Materyal ve Metot:** Samsun ilindeki mezbahalardan 325 adet pnömonili koyun akciğeri toplandı. Marazi maddelerden kanlı agar, Mc Conkey Agar ve Triptik Soy Broth (TSB) gibi besi yerlerine ekimler yapılarak 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İdentifikasyonda değerlendirilecek fenotipik özellikler ve testler arasında; hemoliz, üreaz, ornitin dekarboksilaz, indol, çeşitli karbonhidrat fermentasyon testleri (arabinoz, ksiloz, sorbitol, maltoz, trehaloz,vb) ile bazı enzimatik testler yer almaktadır. İdentifikasyonda ayrıca VITEK-2 otomatize identifikasyon sistemi kullanıldı. İzolatların enrofloksasin, oksitetrasiklin, gentamisin, kloramfenikol, sefaperazon, florfenikol, ampisilin, linkomisin, sülfametaksazol/ trimetoprim, eritromisin, sefalotin, tulatromisine karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer Disk Diffüzyon Yöntemi ile belirlendi.

**Bulgular:** 325 adet örneğin 16 adedinden (%4,92) izole edilen suşların tamamı *Mannheimia haemolytica* olarak identifiye edildi. Biyotiplendirme sonucu suşların tümünün A biyotipinde oldukları belirlendi. Bütün suşların oksitetrasiklin, gentamisin, kloramfenikol, sefaperazon, florfenikol, eritromisin, sefalotin ve tulatromisine duyarlı, 1 suşun enrofloksasine, 4 suşun trimetoprim-sulfametaksazole, 15 suşun ampisiline ve suşların tamamının linkomisine dirençli (R) olduğu tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Yapılan çalışmada fazla sayıda materyal incelenmesine rağmen *Mannhemia spp.* izolasyonunun düşük olması, pnömoni olgularına neden olan başka bir mikrobiyel etkene ve/veya antibiyotik kullanılmış olma durumuna bağlı olabilir. *M. haemolytica* kaynaklı pnömoni olgularında izole edilen suşların gösterdikleri farklı antibiyotik direnç profilleri izole edildikleri bölgeye ve yıllara göre değişiklik gösterebilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** koyun, pnömoni, *Mannheimia*, fenotipik karakterizasyon, antibiyotik duyarlılık

**İlhan ŞAHİN**  
**Yüksek Lisans Tezi**  
**Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ocak-2017**

## ABSTRACT

**Aim:** The aims of the study are to isolate *Mannheimia* species, one of the most important bacterial factors causing sheep pneumonias, to reveal the phenotypic characteristics for identification of these strains and to determine antibiotic susceptibilities, which is the most rational approach to treatment.

**Material and Method:** 325 pneumonic sheep lungs were collected from slaughterhouses in the province of Samsun. Blood Agar, Mc Conkey Agar and Tryptic Soy Broth (TSB) were inoculated and incubated for 24-48 hours at 37°C. Phenotypic characteristics evaluated and tested for identification include; haemolyse, ürease, ornithin decarboxylase, indol, carbohydrate fermentation tests (arabinose, xylose, sorbitol, maltose, trehalose,etc) and some enzymatic tests. VITEK-2 automated identification system was also used for the identification. Susceptibilities of the isolates to enrofloxacin, oxytetracycline, gentamycin, chloramphenicol, cefaperazone, florfenicol, ampicillin, linkomycin, sulfamethoxazole / trimethoprim, erythromycin, cephalothin and tulathromycin Kirby-Bauer Disc Diffusion Method were used.

**Findings:** Sixteen (4.92%) strains were isolated from 325 samples and all were identified as *Mannheimia haemolytica*. All isolates were found as A biotype. It was detected that all strains were sensitive to oxitetracycline, gentamicin, chloramphenicol, cefoperazone, florfenicol, erythromycin, cephalothin and tulathromycin, one strain was resistant to enrofloxacin, four strains were resistant to trimetoprim-sulphamethoxazole, fifteen strains were resistant to ampicilin and all strains were resistant to lincomycin.

**Conclusion:** Though a great numbers of materials were examined in this study, low isolation percentage of *Mannhemia* spp may depend on the other microbial factors and/or antibiotic usage just before slaughter. Variability in antibiotic resistance profiles in *M. haemolytica* strains isolated from sheep pneumonias may depend on region and the years.

**Keywords:** Sheep, pneumonia, *Mannheimia*, phenotypic characterization, antibiotic susceptibility

**İlhan ŞAHİN**  
**Master Thesis**  
**Ondokuz Mayıs University - Samsun, Ocak-2017**

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Ca <sup>2+</sup>	Kalsiyum
CD	değişim kümesi ( cluster of diferentiation)
CPS	Kapsüler polisakkarit
Cu	Bakır
Fe	Demir
GN	Gram Negatif
IL-1	İnterlökin-1
IgA	İmmungloblin A
IgG	İmmunglobulin G
IgG1	İmmunglobulin G1
IgG2	İmmunglobulin G2
IL-8	İnterlökin-8
iNOS	İndüklenebilir NitritOksidSentetaz
IROMPs	Demir bağlayıcı dış membran proteinleri
K <sup>+</sup>	Potasyum
kDa	Kilodalton
LFA-1	Antijen 1 ile birleşmiş lenfosit fonksiyonu
LKT	Lökotoksin
LktA	Lökotoksin A geni
LktB	Lökotoksin B geni
LktC	Lökotoksin C geni
LktD	Lökotoksin D geni
Lpp1	Lipoprotein 1
LPS	Lipopolisakkarit
OMP	Dış membran proteinleri
OmpA	Dış membran A proteini
PCR	PolymeraseChainReaction
PlpE	<i>Pasteurella</i> Lipoprotein E
R	Rough
RTX	Repeats-in-toxin



S	Smooth
Se	Selenyum
TbpA	Transferrin Bağlayan Protein A
TbpB	Transferrin Bağlayan Protein B
Tbp1	Transferrin Bağlayan Protein 1
Tbp2	Transferrin Bağlayan Protein 2
TNF $\alpha$	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
Zn	Çinko



## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>M.haemolytica</i> 'nın identifikasyonunda kullanılan önemli biyokimyasal testler.....	5
Tablo 2. <i>Mannheimia haemolytica</i> biyotiplerinin ayırt edici özellikleri.....	6
Tablo 3. Yeni <i>Mannheimia</i> türlerinin oluşturduğu hastalık modelleri .....	9
Tablo 4. <i>M.haemolytica</i> ve <i>P. multocida</i> için karakteristik biyokimyasal reaksiyonlarının sonuçları.....	11
Tablo 5: <i>Mannheimia</i> cinsinin farklı türlerini karakterize eden fenotipik reaksiyonlar.....	12
Tablo 6 : Biomérieux Vitek® 2 sistemi ile identifikasyon sonuçları .....	16
Tablo 7: İzole edilen <i>M. haemolytica</i> suşlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları...	19
Tablo 8: Bazı antibiyotikler ile ilgili olarak yapılan dirençlilik çalışmaları.....	23

## ŞEKİLLER

Şekil 1. VITEK®2 GN kiti ve cihazı.....	15
Şekil 2. Karbonhidrat fermantasyon test sonuçları.....	18



## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>SİMGE VE KISALTMALAR</b> .....	vi
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	vii,viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Literatür Bilgisi.....	3
2.2. Tarihçe .....	3
2.3. Etiyoloji .....	4
2.4. Başlıca Virülens Faktörleri .....	6
2.4.1. Lipopolisakkaritler (LPS) .....	7
2.4.2. Kapsüler Polisakkarit (CPS) .....	7
2.4.3. Dış membran proteinleri (OMP).....	7
2.4.4. Lökotoksin (Lkt) .....	7
2.4.5. Proteaz .....	8
2.5. <i>Mannheimia</i> Türlerinin Hayvanlarda Meydana Getirdiği Hastalıklar.....	8
2.6. Epidemiyoloji.....	9
2.7. Teşhis .....	10
2.7.1. Bakteriyolojik tanısı.....	10
2.7.2 Serolojik tanı.....	12
2.7.3. Moleküler tanı.....	13
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	14
3.1. Örnekler .....	14
3.2. Kullanılan Besi Yerleri ve Kültür .....	14
3.3. İdentifikasyonda Kullanılan Biyokimyasal Testler .....	14
3.4. Vitek.....	14

3.5. Biyotiplendirme .....	15
3.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	15
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>16</b>
4.1. İzolasyon ve identifikasyon bulguları.....	16
4.2. Vitek bulguları .....	16
4.3. Biyotiplendirme .....	18
4.4. Antibiyotik duyarlılık testi sonuçları .....	19
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>20</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>26</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>27</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>35</b>

## 1.GİRİŞ

Ülkemizin yıllara bağlı olarak artan nüfusu, hayvansal gıdalara ve ürünlere olan talebi artırmıştır. Özellikle et ve süt talebini tek başına sığır varlığımızın karşılaması düşünülemez. Bu talebi tek başına sığır varlığı ile kapatmayı düşünmek ürün yelpazesini daraltacağı gibi çok da ekonomik bir yaklaşım olmaz. Bu bakımdan daha kısa boylu mera bitkilerini tüketebilen koyunun yetiştiriciliği oldukça önemlidir.

Ülkemizde koyun yetiştiriciliğinin her dönemde sorunları olmuştur ve olmaya da devam etmektedir. Bakım, besleme ve barınak koşulları ile ilgili yetersizlikler koyun hastalıkları açısından her zaman hazırlayıcı faktör olmuştur.

Koyun yetiştiriciliğinin diğer çoğu yetiştiricilik türünde olduğu gibi ekonomik ve verimli olması esastır. Ülkemizin son yıllarda yaşadığı et üretimi sıkıntısı ortadan kaldırmanın bir yolu da koyun yetiştiriciliğinden geçmektedir. Ülkemizde koyun yetiştiriciliği Avrupa ülkelerindeki domuz üretimine bir alternatif olarak görülüp bu sektörün sorunları ile ilgilenmek bu alanda atılabilecek en hayati adımdır.

Koyunculuk sektörünün en önemli sorunlarından bir tanesini hastalıklar ve bu hastalıklara bağlı verim kayıpları oluşturmaktadır. Bu hastalıklar içerisinde pnömoni vakaları oldukça geniş yer teşkil etmektedir. Koyun pnömonileri genelde bakteriyel ve viral etkenlerle komplike üst solunum yolu hastalığı şeklinde görülmektedir. Bakteriyel etkenlerin izole ve identifiye edilmesi gerek koruyucu olarak yapılacak aşı üretim çalışmaları açısından gerekse tedavide uygun antibiyotik seçimini yapmak açısından önemlidir. Bu hastalık olgusunda olumsuz çevre koşullarını düzeltmek şartıyla, özellikle bakteriyel etkenlere karşı zamanında ve yeterli sürede antibiyotik kullanımı, tedavide etkili olan ve bahsedilen verim kayıplarını önleyebilecek bir sağaltım seçeneğidir.

Günümüzde en büyük sorunlarından birisi ilaçlara karşı oluşabilecek antibakteriyel dirençtir. Bu sorun hayvan sağlığını ve insan sağlığını tehdit etmektedir. Bakteriyel izolasyon ve identifikasyon, etkili antibiyotiği bulmak, yeterli sürede ve yeterli dozda kullanmak, reçetesiz satışları sıkı takip etmek, antibiyotik kalıntıları ve kullanımı açısından işletmelerde kayıt tutmak ne kadar önemli ise belki daha önemlisi bu alanlarda işletmesel, yerel, bölgesel hatta ülke çapta bilimsel çalışmalar yapmaktır.

Bu çalışmada Samsun İli ve çevresindeki işletmelerden tespit edilen koyun pnömonilerinde *Mannheimia* türlerinin varlığı araştırıldı ve izole edilen etkenler

fenotipik olarak karakterize edildi. Bu şekilde bölgede *Mannheimia spp.* kaynaklı koyun pnömoni prevalansı ortaya konuldu, bu çalışmadan ve ileride yapılabilecek genotipik karakterizasyon çalışmalarından elde edilen veriler özellikle hastalığın kontrolü ve korunması ile ilgili çalışmalara yardımcı olur.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Literatür Bilgisi

Koyunlarda ekonomik kayba neden hastalıkların en önemlilerinden birisi pnömonilerdir. Koyun pnömonilerinde bakteriler viruslar, mantarlar, parazitler gibi çeşitli etkenler rol oynamakta olup barınak şartlarının uygun olmaması, iklim değişiklikleri, stres, yetersiz besleme gibi bağışıklık sistemini zayıflatan faktörler hastalığın hazırlayıcı faktörleri arasında yer almaktadır (Hindson ve Winter, 2002). Ruminantlarda önemli bir hastalık etkeni olan *Mannheimia haemolytica* (*M. haemolytica*) çoğunlukla koyun ve kuzularda pnömonilerden ve septisemilerden sorumlu tutulmaktadır (Frank, 1986; Adlam ve Rutter, 1989). Pnömoninin tek bir mikroorganizma tarafından oluşturulmasından çok, miks bir infeksiyon özelliğinde olduğu ortaya konmuştur (Yates, 1982). Koyun ve sığırlarda solunum yolu infeksiyonlarından birçok virus (bovine herpes virus1 (BHV-1), infectious bovine rhinotracheitis (IBR), parainfluenza 3(PI-3), respiratory syncytial virus (RSV) ve bakteriler (*Pasteurella spp.*, *Streptococcus spp.*, *Esherichia coli* (*E. coli*), *Acinetobacter spp.*, *Mycoplasma spp.*) izolasyonu yapılmaktadır (Collier, 1968). Sığır ve koyunlarda akut pnömoni olgularında bakteriyel etken olarak en çok *Pasteurella* türleri izole edilmektedir (Biberstein, 1960; Güler ve ark., 1996; Adamu, 2007; Altuğ ve ark., 2013). Kronik pnömoni olgularından ise *Pasteurella* türleri dışında *Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* ve *E.coli* gibi bakteriler izole edilebilmektedir (Collier, 1968). Bakteriyel etken olarak ülkemizde *Pasteurella multocida* (*P. multocida*), *M. haemolytica*, *Mycoplasma spp.*, ve *Staphylococcus spp.*, başlıca rolü oynamaktadır (Kaya ve Erganiş, 1991; Aslan,1994; Öztürk ve Çorlu, 2006).

### 2.2. Tarihçe

Jones FS (1921), tarafından *Pasteurella* grubu içinde hemolitik aktivitesi bakımından farklı olan bir mikroorganizma tanımlanmıştır. Newsom ve Cross (1932), aynı mikroorganizmayı danalardan ve koyunlardan izole ederek *Pasteurella haemolytica* olarak adlandırılmasını önermiştir. Simith G (1961), *Pateurella haemolytica* kompleksini arabinoz ve trehaloz'u fermente etme yeteneğine göre biyotip A ve biyotip T olarak birbirinden ayrı 2 gruba ayırmıştır. 1980'lerin başlarında



Mannheim ve ark. (1980), *Haemophilus*, *Actinobacillus* ve *Pasteurella* cinslerinden olan bakteriler (AHP grubu) üzerinde genetik çalışmalar yapmışlar, sonuç olarak bu grubun ayrı bir familya olarak sınıflandırılması gerektiğini düşünmüşler ve hatalı bir şekilde sınıflandırılan bazı türlerin bu guruptan çıkarılması gerektiğini ortaya koymuşlardır. Mannheim (1981), bu aile için *Pasteurallaceae* ismini önermiş ve 3 ayrı cins olarak tutulması gerektiği kanaatine varmıştır. 1985 yılında *P. haemolytica* sensu stricto, DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarına dayanılarak *Pasteurella* genusundan çıkarılmış ve DNA-rRNA hibridizasyon çalışmaları ile *Pasteurella*, *Haemophilus* ve *Actinobacillus* cinslerinden ayrımı doğrulanmıştır. Biberstein (1990), *Pasteurallaceae* familyasının yeniden düzenlemeye tabi tutulan mikroorganizmalardan olduğunu bildirmiştir. Angen ve ark. (1999), fenotipik ve genotipik özelliklerin kapsamlı kantitatif değerlendirme sonuçlarını esas alarak *Pasteurallaceae* familyası içinde trehaloz aktivitesi negatif olan yeni bir genus *Mannheimia* genusunu tanımlamışlardır. Bu cinse ait 5 tür bulunmaktadır; *M. haemolytica* (önceki serotipler 1,2, 5-9, 12-14 ve 16), *M. glucosida* (önceki biyotipler 3A-H ve 9 ve serotip 11), *M. ruminalis* (önceki takson 20 ve biyotip 3J), *M. granulomatis* (önceki takson 18 ve biyogrup 8D), *M. varigena* (önceki biyogrup 6 ve takson 15,16).

### 2.3. Etiyoloji

*Mannheimia* genusundaki türler *Actinobacillus* (özellikle *A. ligniresii*) ve *P. trehalosi* ile oldukça yakın ilişkilidir. *Mannheimia* genusu *Pasteurella* genusundan, mannozdan asit oluşturmamasıyla ayrılabilirken, çoğu hayvan-ilişkili *Actinobacillus*'tan üreaz negatif olması ile ayrılabilir. *Mannheimia* genusu mannitol pozitif olması ile de *Haemophilus* genusundan ayrılabilir (Winn ve ark., 2006). *Mannheimia* genusu içinde *M. haemolytica*, veteriner hekimlikte en önemli olan türdür. *M. haemolytica*, Gram negatif, hareketsiz, sporsuz, kapsüllü kokobasil tarzında, fermentatif, oksidaz pozitif, katalaz pozitif, fakültatif özelliktedir. *M. haemolytica* koyun kanlı agarda 37° de 24 saatte düzgün kenarlı, S-tipi, grimsi, 1-2 mm çapında koloniler meydana getirir. Çoğu suşu sığır, koyun ve tavşanlarda kanlı agarda β-hemoliz gösterir. Etken buyyonu homojen olarak bulandırır ve dipte tortu oluşturarak ürer. MacConkey agarda laktozu fermente ettiği için küçük, kırmızı toplu iğne başı büyüklüğünde koloniler meydana getirirler. Triple sugar iron (TSI) agarda glikoz, laktoz ve sükrozu fermente eder ancak

gaz ve H<sub>2</sub>S oluşturmada ürer (Quin ve ark., 1999). D-sorbitol, D-ksiloz, maltoz ve dekstrini fermente eder. Hiçbir suşu L-arabinozu veya glukozidleri fermente etmez. Suşlar ornitin dekarboksilaz ve NPG ( $\beta$ -glukosidaz) yönünden negatif ONPF ( $\alpha$ -fukosidaz) yönünden pozitifdir (Tablo1).

**Tablo 1.** *M. haemolytica*'nın identifikasyonunda kullanılan önemli biyokimyasal testler (Quin ark., 1999; Winn ve ark., 2006'dan uyarlanmıştır)

Biyokimyasal Özellikler	<i>M. haemolytica</i>
Oksidaz	+
B-hemoliz	+
Mc Conkey Agarda Üreme	+
Hareket	-
İndol	-
Nitrat	+
Üreaz	-
Glukoz (TSI agarda)	+
Sukroz (TSI agarda)	+
Laktoz (TSI agarda)	+
H <sub>2</sub> S (TSI agarda)	-
Ornitin dekarboksilaz	+
Maltoz	+
Arabinoz	+
Trehaloz	-
Mannitol	+

*M. haemolytica*, biyokimyasal ve kültürel özelliklerine göre A ve T olmak üzere 2 biyotipe ayrılmıştır (Tablo 2). Biyotiplendirme işlemlerinde karbonhidrat fermentasyonu, koloni morfolojisi, penisiline duyarlılık, metilen mavisi, brillant green, bazik fuksin gibi boyalara duyarlılık ve lektin aglutinasyonu kullanılmaktadır (Aydın, 1997; Biberstein, 1978; Biberstein ve Gils, 1962; Craft ve ark., 1987). Araştırmalar, [P.] *haemolytica* sensu stricto'nun, [P.] *haemolytica*'nın biyotip A suşları olarak anılmalarına rağmen sadece L-arabinozu fermente etmeyen suşları içerdiğinin altını çizmektedirler (Angen ve ark., 1999). Biberstein ve ark. (1960), indirekt hemaglutinasyon testi kullanarak bir serotiplendirme sistemi geliştirmişlerdir. Biberstein ve Gills (1962) ise biyotipler ile serotipler arasında tutarlı bir ilişkinin

olduğunu bildirmişlerdir. *M. haemolytica*'nın A biyotipine ait 13 (A1, A2, A5, A6, A7, A8, A9, A11, A12, A13, A14, A16, A17) ve T biyotipine ait 4 (T3, T4, T10, T15) olmak üzere toplam 17 serotip bulunmaktadır (Biberstein ve ark. 1960, Fodor ve ark. 1999). A serotipi son yıllarda *M. haemolytica* olarak isimlendirilmekte, A11 serotipi ise özel olarak *M. glucosida* olarak isimlendirilmektedir. T serotipleri ise *P. trehalosi* olarak isimlendirilmektedir (Ackerman ve Brodgen, 2000; Mevinus ve Hartman, 2000). Blackall ve ark. (2007), *P. trehalosi*'yi *Biberstenia* genusu içinde yeniden sınıflandırmışlardır.

**Tablo 2.** *M. haemolytica* biyotiplerinin ayırt edici özellikleri (Biberstein, 1978'den uyarlanmıştır)

<b>Biyotip</b>	<b>A</b>	<b>T</b>
Arabinoz/Ksiloz Fermentasyonu	+	-
Trehaloz/Salisin Fermentasyonu	-	+
Laktoz Fermentasyonu	<sup>1</sup> d <sup>+</sup>	-
Penisiline Duyarlılık	Yüksek	Düşük
Serotipler	1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 16, 17	3, 4, 10, 15
Konakçıda Yerleşim Yeri	Nasofarinks	Tonsiller
İlişkili Olduğu Hastalıklar	Sığır ve Koyunlarda Pnömoni Süt Kuzularında Septisemi	Yemle Beslenen Kuzularda Septisemi

<sup>1</sup> Serotip 2 negatif diğerleri pozitif

*M. glucosida* fenotipik olarak heterojen bir türdür, ancak tüm suşları beta-glukozidaz aktivitesi gösterir. *M. ruminalis* sığır ve koyunların rumeninden izole edilir ve non-hemolitik suşları içerir. *M. granulomatis* koyun kanlı agarda hemoliz yapar. *M. varigena* ornitin dekarboksilazdaki farklılıklara dayanılarak biovar 1 ve 2 olarak sınıflandırılmıştır (Angen ve ark., 2002).

#### 2.4. Başlıca Virulens Faktörleri

*Mannheimia* cinsi içindeki en patojenik tür olan *M. haemolytica*, konak defansından kaçmasına ve kolonize olmasına olanak tanıyan ve hastalık patogenezinde rol oynayan bir çok virülens faktörüne sahiptir (Stevens ve Czuprynski, 1996; Jeyaselan ve ark., 2002). Bu faktörler *M. haemoyitica*'nın çok sayıda ürününü ve komponentlerini kapsamaktadır (Shewen ve ark., 2003).

#### **2.4.1. Lipopolisakkaritler (LPS)**

Lipopolisakkaritler (LPS) Gram negatif bakterilerin önemli immunojenik yapısı olan lipid A ve polisakkaritler olmak üzere iki temel kısımdan oluşur. Bakterinin toksik etkiye sahip bölümü lipid A, somatik antijenlerini belirleyen bölüm ise lipopolisakkaritlerdir. Lipopolisakkaritler dış membrana hidrofobik olarak bağlı blunuklarında saf olarak elde edilebilirler (Erganiş, 1992).

#### **2.4.2.Kapsüler polisakkarit (CPS)**

Kapsüler polisakkarit bakterinin fagositoza direncini sağlar. Bununla birlikte hem nötrofillerin fagositik ve bakterisid aktivitesinin inhibisyonu hem de komplement aracılı lizisin inhibisyonunda önemli rol oynayarak (Czuprynski ve ark., 1989; Czuprynski ve ark., 1991) bakterinin ölmesini engelleyen bir virulens faktörüdür (Gatewood ve ark., 1994; Reggie ve ark., 2001; Mckeral ve Reggie, 2002).

#### **2.4.3. Dış membran proteinleri (Outer membrane proteins-OMP)**

Dış zar proteinleri (Outer membranproteins, OMP), hücre içine ve hücre dışına moleküllerinin taşınmasının yanı sıra, konakçı hücrelere adezyonda rol oynayan önemli yapılardır (Squire ve ark. 1984).

*M. haemolytica* birçok dış membran proteinine sahiptir (Pandher ve ark., 1999). Bunlar genellikle demir bağlayan proteinlerdir ve Tbp1 (transferin bağlayıcı protein) ve Tbp2 bu proteinlere örnek verilebilir (Ogunnariwo ve ark., 1997). Bu proteinler fizyolojik ve patolojik bakımdan ilişkili olup demir kazanımı ile ilgilidir.

#### **2.4.4.Lökotoksin (Lkt)**

*M. haemolytica* tarafından üretilen lökotoksin, koyun pnomonilerinde lezyonların oluşumuna katkıda bulunan en önemli virülens faktörüdür (Shewen ve Wilkie, 1985; Sutherland ve Redmond,1986). Lökotoksin kalsiyum bağımlı por oluşumu ile alveolar makrofajları, lökositleri ve monositleri lize eder. Ayrıca lökotoksinler kan pulcuklarında da lizis meydana getirerek trombus oluşumuna ve eksudasyona neden olurlar (Clinkenbeard ve Upton, 1991).

#### **2.4.5. Proteaz**

Fizyolojik ve patolojik rolleri tam anlaşılamamasına rağmen doğal ve edinilmiş bağışıklığı önleyerek bu sayede kolonizasyonu ve akciğerlerde hastalığın oluşumunu kolaylaştıran rolleri vardır. Özellikle nöraminidazlar bir çok viral ve bakteriyel patojen tarafından üretilir ve solunum sistemi sekresyonunun koruyucu etkisini ortada kaldırmak suretiyle etkenin mukozal yüzeyde varlığını devam ettirmesini sağlar ( Adlam C, 1989).

#### **2.5. Mannheimia Türlerinin Hayvanlarda Meydana Getirdiği Hastalıklar**

Pasteurellaların koyunlarda solunum sistemi enfeksiyonlarının etiolojisinde önemli rollerinin olduğu uzun zamandır bilinmektedir. *M. haemolytica* (*Pasteurella haemolytica*) pnömonik pastörellozisin birincil etkeni olarak kabul edilmekte olup koyun ve kuzuların pnömoni ve septisemilerinden sorumlu tutulurlar. Sığırlarda ise pnömoniye neden olurlar (Frank, 1986). Koyun pnömonilerinde *M. haemolytica*'nın yanı sıra *Pasteurella multocida* salgınlarında bildirilmiştir (Adlam ve Rutter 1989; Odugbo ve ark., 2006). *Mannheimia* türlerinin hayvanlarda üst solunum yollarında oluşturduğu hastalıklar Tablo 3'de sunuldu.

**Tablo 3.**Yeni Mannheimia türlerinin oluşturduğu hastalık modelleri (Tafera ve Smola, 2001'den uyarlanmıştır)

Türler	Konakçı Hayvan	Habitat	Etiyolojik Önem
<i>M. haemolytica</i>	Sığır	Üst Solunum Yolu	Bronkopnömoni Septisemi
	Koyun	Üst Solunum Yolu	Pnömoni Septisemi
	Keçi	Üst Solunum Yolu	Pnömoni
<i>M. varigena</i>	Sığır	Üst Solunum Yolu	Pnömoni Sepsis Diğer Hastalık Koşulları
	Domuz	Üst Solunum Yolu	Pnömoni Sepsis Diğer Hastalık Koşulları
<i>M. glucosida</i>	Koyun	Üst Solunum Yolu	Pnömoni Diğer Hastalık Koşulları
<i>M. granulomatis</i>	Tavşan ve Yaban Tavşanı	Üst Solunum Yolu	Diğer Hastalık Koşulları Prulent Konjunktivitis Skin Granuloma
	Sığır	Üst Solunum Yolu	Diğer Hastalık Koşulları
<i>M. ruminalis</i>	Ruminantlar	Üst Solunum Yolu	Bilinmiyor

## 2.6. Epidemiyoloji

*M. haemolytica* enfeksiyonlarına ABD'de, İsveç, Norveç, İngiltere ve Japonyada fazlaca rastlanılmaktadır (Aydın ve Paracıkoğlu, 2006). Pastörollozis genel olarak mikroorganizma ile bulaşık su ve gıdaların alınması sonucu sindirim yolu ile bulaşır. Bundan başka solunum yolu, konjunktiva ve derideki yaralardan da etken vücuda girer ve hastalık yapar. Hastalık etkenleri çoğu zaman sağlam hayvanların üst solunum yolları ve yutaklarında fakültatif patojen olarak yaşarlar. Hayvanlarda direncin kırılması (stres faktörleri) bu mikroorganizmaların üremesine ve patojenite kazanmasına yardım eder (Quin ve ark., 2004; Aydın, 2006).

Hastalıkla ilgili daha ayrıntılı tanımlamalar Asya'da gerçekleştirilmiştir. Burada salgınlar özellikle yağmur mevsimi boyunca görülmektedir. Mikroorganizmalar ara mevsimlerde taşıyıcı sığır ve yaban sığırlarının nazofarinks bölgesindedir. Salgının

başlaması taşıyıcı hayvandaki dengenin stres faktörleriyle bozulması ile olur. Bu durum duyarlı hayvanda mikroorganizmanın yoğun proliferasyonu ve yayılmasıyla devam eder. Yaşayan hayvanların yaklaşık %10'unda hastalık subklinik seyrederek ve bağışıklık meydana gelir. Ancak hastalık klinik olarak görüldüğünde, etkenler antibiyotiklerle öldürülebilse dahi mortalite %100' lere kadar çıkmaktadır. Bu durum klinik hastalığın ölümle sonuçlanmasında etken proliferasyonunun ile birlikte toksinlerin özellikle endotoksinlerin önemli olduğunu göstermektedir (Hazıroğlu ve Milli, 1998).

*M. haemolytica* sağlıklı sığırlarda kommensal mikroorganizma olarak nazofarinkste ve tonsillerde yaşar ve konakçısı ile simbiyotik ilişkisini sürdürür (Rice ve ark., 2008). Ancak süttten kesme, kötü hava koşulları, hayvan nakilleri, beslenme değişikliği, sürüye yeni katılımlar gibi stres yaratan durumlar esnasında bakteri üst solunum yollarında çoğalır (Rice ve ark., 2008; Sun ve ark., 1999). Tonsiller *M. haemolytica* için rezervuar doku olarak tanımlanmaktadır. Buzağlarda *M. haemolytica*'nın nazal svab kültürünün negatif olduğu durumlarda tonsil kültürü pozitif olabilir (Rice ve ark., 2008).

## **2.7. Teşhis**

Hastalık antraks, sığır vebası, yanıkara ve piraplazmozis ile karışabildiği için klinik ve otopsi bulgularına göre her zaman teşhis edilemez. Kesin teşhis etken izalasyon ve identifikasyonu ile yapılmaktadır (Aydın ve ark., 1997).

### **2.7.1. Bakteriyolojik Tanısı**

Bovine Respiratory Disease complex (BVDC)'in oluşumunda rol oynayan etkenlerden olan *M. haemolytica*'nın ve *Mannheimia* genusundaki diğer türlerin laboratuvar tanısında kan, nazal veya nazofarengeal svab, trakeobronşiyal lavaj ve nekropside alınan doku örnekleri kullanılmaktadır (Frank, 1986, Markey ve ark., 2013).

### **Direkt Bakteriyoskopi**

Akut olaylarda mikroorganizma her yerde bulunduğu için gönderilen kalp kanı, ödem sıvıları, dalak, akciğer, kemik iliği ve dokulardan preparatlar hazırlanarak Giemsa ile boyanır ve frotide bipolar mikroorganizmalar aranır. Kronik

olgularda mikroorganizmalar daha çok organlarda lokalize olmuşlardır. Frotilerde bipolar mikroorganizmaların görülmesi ile kesin tanıya gidilemez (Abdullah ve ark., 1991).

### **Kültür**

Marazi maddelerden kanlı agara, serumlu veya özel besiyerlerine ekimler yapılır. 37 °C de 24-48 saat inkübasyona edilir. Üreyen mikroorganizmaların koloni morfolojileri, mikroskobik, morfolojileri ve biyokimyasal özellikleri incelenir. *M. haemolytica* katı besiyerlerinde S ve R tipi koloniler oluşturur. Kanlı agarda beta hemoliz yapar. Laktoz, glukoz, sakkaroz, maltoz ve galaktozdan gaz teşkil etmeksizin asit meydana getirir. Buna karşılık adonitol, ramnoz ve salisini fermente etmez. Katalaz pozitif, indol, üre ve H<sub>2</sub>S negatiftir (Abdullah ve ark., 1991). *M. haemolytica* ve *P. multocida* için karakteristik biyokimyasal reaksiyonlarının sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 4’de, *Mannheimia* cinsinin farklı türlerini karakterize eden fenotipik reaksiyonlar ise Tablo 5’de gösterilmiştir.

**Tablo 4:** *M. haemolytica* ve *P. multocida* için karakteristik biyokimyasal reaksiyonlarının sonuçları (Hawari ve ark., 2008’den uyarlanmıştır)

<b>Reaksiyon</b>	<b><i>M. haemolytica</i></b>	<b><i>P. multocida</i></b>
Hemoliz	-	-
İndol fermantasyonu	-	+
Litmus milk	<i>Asit</i>	Nötr
Glukoz	+	-
Sakkaroz	+	+
Laktoz	+	+
Oksidaz	+	+
Katalaz	+	+

+: Mevcut , - : Mevcut Değil



**Tablo 5:** *Mannheimia* cinsinin farklı türlerini karakterize eden fenotipik reaksiyonlar (Angen ve ark., 2002'den uyarlanmıştır)

Test	<i>M.haemolytica</i>	<i>M.glucosida</i> <sup>3</sup>	<i>M.varigena</i> <sup>4</sup>	<i>M.granulomatis</i>	<i>M.ruminalis</i> <sup>5</sup>
Hemoliz	+	+	+	- <sup>6</sup>	+
Üreaz	-	-	-	-	-
ODC	-	d	d	-	- <sup>7</sup>
İndol	-	-	d	-	-
L-Arabinoz	-	d	+	-	- <sup>7</sup>
D-Ksiloz	+	+	+	d	d
Mannitol	+	+	+	+	+
D-Sorbitol	+	+	-	+	d
Maltoz	+	+	+	+	d
Trehaloz	-	-	-	-	-
Eskülin	-	+	- <sup>7</sup>	d	-
NPG	+	+	d	+	-
ONPF	+	+ <sup>7</sup>	d	-	-
ONPX	d	d	d	d	-
ONPG	d	+	d	d	+

<sup>2</sup> d: değişken

<sup>3</sup> *M. glucosida* ODC (ornithine decarboxylase), ONPF( $\alpha$ -fucosidase), ONPX( $\beta$ -xylosidase) farklılıklarından ve L-arabinose ve gentiobiose fermantasyonundan kaynaklanan A-I biovarlarına ayrılır.

<sup>4</sup> *M. varigena* ODC(Ornithine decarboxylase)' deki farklılıklara dayalı olarak 1 ve 2 biovarına ayrılabilir.

<sup>5</sup> *M. ruminalis* maltoz fermantasyonundaki farklılıklara dayalı olarak 1 ve 2 biovarına ayrılabilir.

<sup>6</sup> *M. granulomatis* koyun kanlı agarda hemoliz

<sup>7</sup> Değişik suşlar vardır

## Hayvan Deneyi

Gerek marazi maddelerden ve gerekse izole edilen mikroorganizmalardan fare ve güvercinlere enjeksiyon ile inokulasyonlar yapılır. Hayvanlar virulent suşla 24-48 saat içinde ölürlür. Ölen hayvanların kanından froti ve ekimler yapılarak teşhis doğrulanır (Abdullah ve ark., 1991).

### 2.7.2. Serolojik Tanı

Bakteriyolojik tanıyla identifiye edilebildiklerinden serolojik tanıya pek gerek duyulmaz (Abdullah ve ark., 1991). Serotiplerin belirlenmesinde kapsüller polisakkaritlerin tespitine dayanan indirekt hemaglutinasyon testi kullanılır. Serotiplerin

taini hastalığın oluşumun da etkili olan serotiplere karşı aşı geliştirilmesi çalışmaları açısından büyük önem teşkil etmektedir.

### **2.7.3.Moleküler tanı**

Moleküler tanı tekniklerine her geçen gün bir yenisi daha eklenerek farklı amaçla yürütülen bilimsel çalışmalara katkı sağlamaktadır. *M. hemolytica*'nın moleküler tanısında çeşitli PCR teknikleri uygulanmaktadır (Ryan ve Lo, 1999; Deressa ve ark., 2010), Ayrıca demir düzenleyici dış membran proteinlerinin (IROMPs) karakterizasyonuna ilişkin elektroforez çalışmaları yapılmıştır (Puchalski ve ark., 2013).

Türkiyede yapılan en çok tercih edilen moleküler tanı yöntemleri; Darbeli Alan Jel Elektroforezi (Pulsed Field Gel Electrophoresis; PFGE), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Kırkan ve Kaya, 2003) ve 16S rDNA dizilim analizidir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012). Bunlara ek olarak DNA konsantrasyonu ve ekstraksiyonu, real-time PCR, DNA sekans analizi, melting curve analizi, ribotiplendime ve yeni nesil DNA sekans analizi gibi yöntemlerde kullanılmaktadır (Diker, 2014). Bu yöntemlerin başlıca avantajları; klasik yöntemlerle teşhisi yapılamayan enfeksiyonların teşhis edilmesi, daha hassas olması ve kesin tanı gerçekleştirmesi, kontamine örneklerden teşhis yapılabilmesi, iş gücünün azaltılması, laboratuvar kapasitesini artırması, örnek başına tanı maliyetlerinin azaltılması, hızlı tanı yapılabilmesi, daha kesin tür ayrımı ve tiplendirme yapılabilmesi ve tıbbi atıkların azaltılması şeklinde sıralanabilir (Diker, 2014). Dezavantajları ise cihaz ve malzeme maliyetlerinin yüksek olması, deneyimli personel ihtiyacı, kros reaksiyon ihtimali (Çetinkaya ve Ayhan, 2012), antimikrobiyal duyarlılık sonuçları hakkında yetersiz bilgi vermesidir (Özgen, 2012).

### **3.MATERYAL VE METOT**

#### **3.1 Örnekler**

Bu çalışma için Samsun İli'nde bulunan mezbahalardan toplam 325 adet pnömonili koyun akciğeri toplandı (104 adedi 2015 yılında 221 adedi 2016 yılına ait). Lezyonlu akciğer örnekleri en kısa süre içerisinde, soğuk zincir altında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi.

#### **3.2.Kullanılan Besiyerleri ve Kültür**

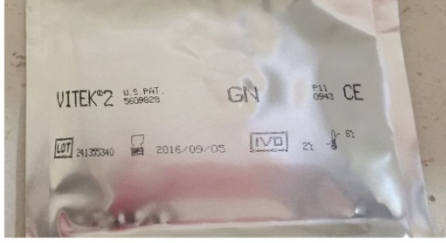
Laboratuvara getirilen örneklerden %5 koyun kanlı agar ve MacConkey agara ekimler yapıldı. Petri kutuları 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Üreyen koloniler koloni morfolojisi yönünden değerlendirildi, Kanlı agardaki hemolitik kolonilerden Gram boyama yapıldı. Sonrasında Triptik Soy Buyyon'a ve Triptik Soy Agar'a saf kültür üretmek üzere inokulasyonlar yapılarak 37°C' de 24-48 inkübasyon sonucunda elde edilen kültürlerden fenotipik karakterizasyona yönelik çeşitli biyokimyasal testler yapıldı. Katı kültürden sıvı besiyerine (TSB) ekimler yapılarak kültürler sonraki biyokimyasal testlerde kullanıldı.

#### **3.3. İdentifikasyonda Kullanılan Biyokimyasal Testler**

Elde edilen saf kültürlerden biyokimyasal testler yapılarak identifikasyon ve fenotipik karakterizasyon gerçekleştirildi. Bunun için başta katalaz, oksidaz testleri olmak üzere indol, H<sub>2</sub>S testi, karbonhidrat fermentasyon testleri (glukoz, laktoz, sukroz, arabinoz, trehaloz, ksiloz, maltoz, sorbitol, eskülin) yapılarak McConkey Agar'da üreme durumları ve kanlı agardaki hemoliz durumları değerlendirildi. Değerlendirmeler Tablo 1, 4 ve 5'de belirtilen kriterler göz önüne alınarak yapıldı.

#### **3.4.Vitek**

İzolatların identifikasyonu ve konfirmasyonu için ayrıca Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsündeki otomatize VITEK sistemi kullanıldı (Şekil 1). VITEK 2 sistemi çeşitli biyokimyasal parametreleri temel alarak identifikasyon gerçekleştirmekte olup bu parametreler Tablo 6'da verilmiştir.



**Sekil 1:** VITEK® GN Kit ve Cihazı

### 3.5. Biyotiplendirme

İdentifiye edilen *M. haemolytica* suşlarına arabinoz, ksiloz, trehaloz, laktoz fermentasyonu ve penisilin duyarlılık testleri yapılarak biyotiplendirmeye gidildi. Nutrient buyyon, içinde %1 karbonhidrat ve indikatör madde olarak da bromtimol mavisi olacak şekilde hazırlandı. Test edilecek suşlar bu besi yerlerine inokule edilerek 37°C'de 14 gün süreyle inkubasyona bırakıldı. Değerlendirme besi yeri renginde meydana gelen sarı renk değişikliğinin gözlenmesi (pozitif sonuç) suretiyle gerçekleştirildi.

Biyotiplendirmede kullanılan kriterlerden biri olan penisilin duyarlılıkları Kirby-Bauer Disk Difüzyon Metodu ile penisilin (10IU) kullanılarak gerçekleştirildi.

Kanlı agardaki koloni morfolojileri büyüklük, renk, vb özellikleri yönünden değerlendirildi.

### 3.6. Antibiyotik Duyarlılık Testi

İzolatların 12 farklı antibiyotiğe (enrofloksasin, oksitetrasiklin, gentamisin, kloramfenikol, sefaperazon, florfenikol, ampisilin, linkomisin, sülfametaksazol/trimetoprim, eritromisin, sefolatin, tulatromisin) karşı duyarlılıkları Agar Disk Difüzyon yöntemi ile değerlendirildi. Belirlenen inhibisyon zonu çapları Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2011) belirlediği standartlara göre değerlendirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon

Koyunlara ait 325 adet leyzonlu akciğer örneği üzerinde yapılan izolasyon ve identifikasyon çalışmaları sonucunda 16 (%5) *M. haemolytica* suşu izole ve identifiye edildi.

Elde edilen saf kültürlerden biyokimyasal testler yapılarak identifikasyon ve fenotipik karakterizasyon gerçekleştirildi. Koyun kanlı agarda tüm izolatların hemoliz oluşturduğu gözlemlendi. Suşların tamamının katalaz ve oksidaz testleri pozitif (+), indol negatif (-), TSI agarda H<sub>2</sub>S negatif oldukları, karbonhidrat fermentasyon testlerinde; glukoz (+), sukroz (+), ksiloz (+), maltoz (+), sorbitol (+), eskülin (-), laktoz fermentasyonu yönünden değişkenlik gösterdikleri ancak büyük çoğunluğunun pozitif olduğu belirlendi.

### 4.2.Vitek

İzole edilen ve konvansiyonel biyokimyasal testlerle *M. haemolytica* olarak identifiye edilen suşların identifikasyonları ve konfirmasyonları için kullanılan Biomerieux Vitek®2 sistemindeki parametreler yönünden elde edilen sonuçlar Tablo 6'da verilmiştir. Otomatize sistem bulguları tüm suşların *M. haemolytica* ile uyumlu olduklarını gösterdi.

**Tablo 6: Biomérieux Vitek® 2 sistemi ile identifikasyon sonuçları**

Well	Test	Anımsatıcı Simge	Sonuç <sup>8</sup>
2	Ala-phe—pro-ARYLAMIDASE	APPA	-
3	ADONİTOL	ADO	-
4	L-Pyrrolydon-ARYLAMIDASE	PyrA	-
5	L-ARABİTOL	IARL	-
7	D-CELLOBİÖSE	dCEL	-
9	B-GALACTOSİDASE	BGAL	-
10	H <sub>2</sub> S PRODUCTION	H <sub>2</sub> S	-
11	BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMİNİDASE	BNAG	-
12	Glutamyl Arilamidase pNA	AGLTp	-
13	D-GLUCOSE	dGLU	+
14	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	GGT	-

**Tablo 6 (devam): Biomérieux Vitek® 2 sistemi ile identifikasyon sonuçları**

15	FERMANTATİON/GLUCOSE	OFF	-
17	BETA GLUCOSIDASE	BGLU	-
18	D-MALTOSE	dMAL	+
19	D-MANNİTOL	dMAN	+
20	D-MANNOSE	dMNE	-
21	BETA-XYLOSİDASE	BXYL	-
22	BETA-Alanine arylamidase pNA	BAlap	-
23	L-Prolyne-ARYLAMIDASE	ProA	-
26	LIPASE	LIP	-
27	PALATINOSE	PLE	-
29	Tyrosine ARYLAMIDASE	TyrA	-
31	UREASE	URE	-
32	D-SORBITOL	dSOR	+
33	SACCHAROSE/SUCROSE	SAC	-
34	D-TAGATOSE	dTAG	-
35	D-TREHALOSE	dTRE	-
36	CITRATE(SODIUM)	CIT	-
37	MALONATE	MNT	-
39	5-KETO-D-GLUCONATE	5KG	-
40	L-LACTATE alkalisation	ILATk	-
41	ALPHA-GLUCOSİDASE	AGLU	-
42	SUCCINATE alkalisation	SUCT	-
43	Beta-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	NAGA	-
44	ALPHA-GALACTOSİDASE	AGAL	-
45	PHOSPHATASE	PHOS	-
46	Glycine ARYLAMIDASE	GlyA	-
47	ORNITHİNE DECARBOXYLASE	ODC	-
48	LYSINE DECARBOXYLASE	LDC	-
53	L-HISTIDINE assimilation	IHISa	-
56	COUMARATE	CMT	-
57	BETA-GLUCORONİDASE	BGUR	-
58	O/129 RESISTANCE(comp. vibrio.)	O129R	-
59	Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	GGAA	-
61	L-MALATE assimilation	IMLTa	-
62	ELLMAN	ELLM	-
64	L-LACTATE assimilation	ILATa	-

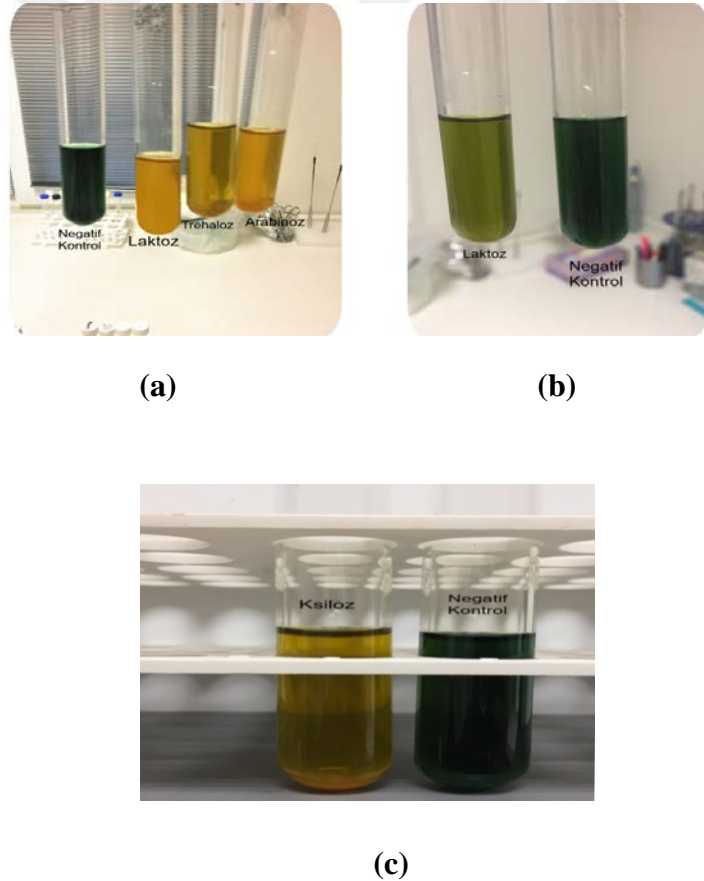
<sup>8</sup>Tüm izolatlar için+: Mevcut , - : Mevcut Değil

### 4.3.Biyotiplendirme

Karbonhidrat fermentasyon testleri sonucunda besi yeri rengine meydana gelen sarı renk değişikliğinin gözlenmesi pozitif, renk değişikliğinin olmaması (mavi renk) negatif olarak değerlendirildi. Suşların tamamında (%100) arabinoz fermentasyonu ve ksiloz fermentasyonu pozitif iken tamamında (%100) trehaloz fermentasyonu negatif bulundu. Laktoz fermentasyonu ise, suşlar arasında değişkenlik gösterdi ve 16 suşun 13 adedi (%81,3) laktoz pozitif bulundu. Laktoz, trehaloz, arabinoz ve ksiloz fermentasyonu test sonuçları Şekil 2’de gösterilmiştir.

Tüm suşlar penisiline (10 IU) karşı duyarlı bulundu. Koloni morfolojileri yönünden yapılan değerlendirmede, izolatların hepsi yaklaşık 2 mm çapında, hemolitik ve açık gri renkte koloniler oluşturdu.

Biyotiplendirme yukarıda söz edilen 3 kritere göre gerçekleştirildi ve tüm suşlar biyotip A olarak tespit edildi.



Şekil 2: Karbonhidrat Fermantasyon Test Sonuçları: a: laktoz, trehaloz ve arabinoz pozitif örnek, b: laktoz negatif örnek, c: ksiloz pozitif örnek

#### 4.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre, *M. haemolytica* izolatlarının tamamının (%100) oksitetrasiklin, gentamisin, kloramfenikol, sefaperazon, florfenikol, eritromisin, sefalotin ve tulatromisine duyarlı (S), 1 suşun enrofloksasine (%6,3), 4 suşun trimetoprim-sulfametaksazole (%25), 15 suşun ampisiline (%93,8) ve suşların tamamının linkomisine (%100) dirençli (R) olduğu tespit edildi (Tablo 7). Belirlenen inhibisyon zon çapları CLSI'nin belirlediği standartlara göre değerlendirildi.

**Tablo 7:** İzole edilen *M. haemolytica* suşlarının antibiyotik duyarlılık sonuçları

Antibiyotik	Disk İçeriği	S(n)	I(n)	R(n)	Direnç yüzdesi(%)
Enrofloksasin	5µg	14	1	1	%6,25
Oksitetrasiklin	30µg	10	6	-	%0
Gentamisin	10µg	16	-	-	%0
Kloramfenikol	10µg	14	2	-	%0
Sefaperazon	75µg	16	-	-	%0
Florfenikol	30µg	16	-	-	%0
Ampisilin	10µg	-	1	15	%93,75
Linkomisin	2µg	-	-	16	%100
Sulfametaksol/ Trimetoprim	25µg	12	-	4	%25
Eritromisin	15µg	8	8	-	%0
Sefalotin	30µg	15	1	-	%0
Tulatromisin	30µg	16	-	-	%0



## 5. TARTIŞMA

Koyunlarda solunum sistemi hastalıkları tüm dünyada önemli kayıplara yol açmaktadır. Solunum sistemi enfeksiyonuna neden olan bakterilerin çoğu doğal olarak üst solunum yollarında bulunmaktadır (Arda ve ark., 1999). *M. haemolytica*, klinik olarak sağlıklı sığır, koyun ve keçilerin nazofarengal ve oral mukoz membranlarından izole edilebilen oportunist bir patojendir. Mannheimia cinsi içindeki birçok tür de oportunistik patojenler olarak bilinmektedir (Ewers ve ark., 2004). Barınak koşullarının uygun olmaması sonucunda ortaya çıkan havalandırma sorunları, iklim değişiklikleri, sürüye dışardan katılan hayvanlar ve her türlü stres faktörü bu mikroorganizmaları baskın hale getirerek hastalık tablosu oluşturmaktadır (Ayers, 1992; Martin, 1999). Türkiyede değişik zamanlarda koyun akciğerlerinden *M. haemolytica* (*P. haemolytica*) izolasyon çalışmaları yapılmıştır. Baysal ve Güler (1992), 186 pnömonili kuzu ve oğlak akciğerinden 46 adet (%25,0) *P. haemolytica* izole etmişlerdir. Otlı (1997), Kars yöresi koyunlarına ait 247 pnömonik akciğerden 56 (%22,7) adet *P. haemolytica* suşu izole ettiğini bildirmiştir. Öztürk ve Çorlu (2006), Konya Et-Balık Kurumu Mezbahası'na kesime getirilen koyunlardan makroskopik olarak pnömoni teşhisi konulan 150 akciğerden 38'inden 60 bakteri izolasyonu yapmıştır. Örneklerin 15'inden *M. haemolytica*, 2'sinden ise *P. multocida* izole edilmiştir. Solmaz ve İlhan (2011), 2009 yılında Et ve Balık Kurumu Van Kombinasından elde ettikleri 165 adet koyun akciğerinde konvansiyonel testlerle yapılan identifikasyon ile örneklerin 21'inden (%12,7) *M. haemolytica* izole etmiştir. Tel ve Keskin (2010), 240 adet pnömonik koyun akciğerinden 76 adet (%31,6) *P. multocida* ve 30 adet (%12,5) *M. haemolytica* izole etmişlerdir. Gürbüz ve Şahin (2003), Kars Belediye Mezbahasında kesilen 106 adet pnömonik koyun akciğerinden 29 adet (%37,3) *M. haemolytica* izole etmiştir. Suşların 18 (%62,2)'i biyotip T ve 11 (37,9)'i biyotip A olarak tespit edilmiştir. Kaya ve Kırkan (1999), pnömonili 475 adet ve sağlıklı 50 adet koyundan burun svapları aldı. Burun akıntısı olan koyunlardan 48 (%10,1), sağlıklılardan ise 2 (%4,0) *P. haemolytica* suşu izole edildi. Pnömonili koyunlardan izole edilen 48 suşun 35 (%72,9)'i biyotip T, 13 (%27,1)' ü biyotip A, sağlıklı koyunlardan izole edilen 2 (%4,0) *P. haemolytica* suşu biyotip A olarak belirledi. Güler (1993), pnömonili koyun ve keçi akciğerinin 291 (%29,7)'inden *P. haemolytica* suşu izole etmişlerdir. Koyun ve keçilerden izole edilen

119 *P. haemolytica* suşunun 119'unun serotip ve biyotiplerini incelemiş ve suşların 110 (%92,4)'unu biyotip A, 9 (%7,5)'unu biyotip T olarak belirlemiştir. İlhan ve Keleş (2007), pnömoni semptomları gösteren ve kesimi yapılan 584 adet koyuna ait akciğer örneğinin 66 (%11,3) adedinden *M. haemolytica* izole ve identifiye etti. Suşların 57 (%86,3)'sinin biyotip A, 9 (%13,6)'unun biyotip T olduğunu belirledi. Dünyada koyun akciğerlerinden *M. haemolytica* (*P. haemolytica*) izolasyon çalışmaları yapılmıştır. (Angen ve ark, 2002), 1994-1998 yılları arasında Danimarka Veteriner Laboratuvarına getirilen hasta sığır, domuz, koyun ve yabani tavşanlara ait örneklerden 106 adet *M. haemolytica* ve benzeri suş elde etmiştir. Koyun örneklerinin 6 adedinden *M. haemolytica*, 1 adedinden *M. glucosida* ve 1 adedinden *P. trehalosi* izole etmiştir. Balanco Viera ve ark. (1995), Mexico City mezbahasında 13000 çift akciğer üzerinde çalışma yapmıştır. Bu akciğerlerin 8000'i koyunlardan 5000'i sığırlardan elde edilmiştir. Pnömoni belirtisi gösteren 224 akciğerden 97 pozitif izolat elde etmiştir. Pozitif izolatlardan elde ettiği 112 *Pasteurella* spp. suşun 40 tanesinin *P. haemolytica*, 72 tanesinde *P. multocida* olduğunu tespit etmiştir. *P. haemolytica* suşlarının tamamının biyotip A olduğunu ortaya konulmuştur. Tafera ve Smola (2002), Çek Cumhuriyeti ve Etiyopya'da farklı hayvan türlerinden izole edilen 321 suşun identifikasyonu için ENTERO Rapid 24 kit (PLIVA-Lechem, Czech Republic)'ini kullandı. 207 suşu tür düzeyinde identifiye etmiş, 39 suşu ise cins düzeyinde sınıflandırmıştır. Kalan suşlarda identifikasyon ve sınıflandırma yapamamıştır. Suşların 28'i koyundan 22'si ise keçilerden izole edilmiştir. Koyunlardan izole eden 4 suş ve keçilerden izole edilen 2 suş *M. haemolytica* olarak identifiye edilmiştir. Hawari ve ark. (2008), RAPD analiz ve PCR tekniklerini kullanarak Ürdünün Orta ve Kuzey kesimlerinden koyun ve keçilerden topladığı 196 adet örnekten 50 adet *P. multocida* ve 5 adet *M. haemolytica* izole etmiştir. Berge ve ark. (2006), 41 koyun ve 36 keçinin solunum yollarından 28 *P. multocida* ve 39 *M. haemolytica* izole ve identifiye etmişlerdir. Clothier ve ark. (2012), Amerika Birleşik Devletlerinde çeşitli bölgelerden diagnostik tanı için toplanan keçi pulmoner doku örneklerinden 45 adet *M. haemolytica*, 11 adet *P. multocida* ve 11 adet *B. trehalosi* izole etmiştir. Naccari ve ark. (2015), İtalya'da 460 sütçü koyun üzerinde yapılan çalışmada respiratorik infeksiyondan etkilenen 36 melez sütçü koyunun 16'sından *M. haemolytica*, 8'inden *P. multocida* ve 6 adedinden *Mycoplasma ovipneumonia* ve 6 adedinden de *Pseudomonas* spp. izole

edilmiştir. Yapılan çalışmada 325 adet pnömonili koyun akciğerinden 16 (%5) adet *M. haemolytica* izole edildi. Fodor ve ark. (1984), koyunlardan izole edilen 186 suşun %92,5'inin biyotip A ve %7,5'inin biyotip T olduğunu tespit etmişlerdir. Bakke (1982), Güney Norveç' te 126 pnömonik koyun akciğerinden 47 (%37,3) adet *M. haemolytica* suşu izole ettiğini bildirmiştir. Pegram (1974), koyun ve keçilere ait 24 *P. haemolytica* suşunun tamamının biyotip A olduğunu tespit etmiştir. Hajtos ve ark (1985), koyunlardan izole ettikleri 175 suşun 156 (%89,1)'sının biyotip A, 19 (%10,9)'unun biyotip T olduğunu tespit etmiştir. Bu çalışma izolasyon sayıları bakımından diğer araştırmacıların çalışmalarına pek benzerlik göstermemektedir. Sınırlı sayıda hayvan incelenmesi, mevsimsel geçiş dönemleri ve de antibiyotik kullanım durumuna göre izolasyon yüzdeleri yüksek veya düşük olabilmektedir. Ayrıca pnömoni tablosunun çok sayıda etken tarafından oluşturulduğu bilinmektedir. Pnömoni vakalarında viral ve paraziter etkenlerinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Mannhemia'ların üretilmesi nispeten daha zor bakteriler olduğu düşünüldüğünde izolasyon oranının düşük olması olasılık dahilinde görülmektedir. Koyun pnömonilerinden izole edilen *M. haemolytica*'ların A biyotipi dünyada ve Türkiye'de yaygındır. Bu çalışma biyotip A'nın yaygınlığı bakımından yukarıda belirtilen çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Antimikrobiyal tedavi önemli bir sağaltım seçeneği olabilir. Ancak günümüzde antibiyotiklere karşı gelişen antibakteriyel direnç büyük bir problemdir. Bu problem gelecek zaman diliminde de sorun olmaya devam edecektir. Bu anlamda antibiyotik tedavisinde en akılcı yaklaşımı ortaya koymak için antibiyogram sonuçlarının dikkate alınarak etkenin duyarlı olduğu antibiyotiği seçmek gerekir. Hastalık olgularından izole edilen suşların antibiyotik direnç profillerinin ortaya konulması epidemiyolojik çalışmalarda bakteriyel tiplendirme konusunda faydalı olurken aynı zamanda tedavi seçenekleri ve kontrol stratejileri bakımından yönlendirici olmaktadır.

**Tablo 8:** Bazı Antibiyotikler İle İlgili Olarak Yapılan Dirençlilik Çalışmaları (%)

Antibiyotikler	Diker ve ark. (1994)	Gündüz ve Erganiş (1998)	Rolinski ve ark. (1999)	Gürbüz ve Şahin (2003)	<sup>9</sup> Öztürk ve Çorlu (2006)	<sup>12</sup> Berge ve ark. (2006)	<sup>10</sup> Öztürk ve Civelek (2007)	<sup>11</sup> Tel ve Keskin (2010)	Solmaz ve İlhan (2011)	Clothier ve ark. (2012)
Enrofloksasin	-	-	-	0	0	-	-	-	9,6	2,2
Oksitetrasiklin	0	-	6-16	83	11,8	5	0	13	23,9	6,7
Gentamisin	-	-	-	3,5	100	-	46,67	3	28,6	0
Kloramfenikol	100	-	6-16	-	-	-	-	-	23,9	-
Sefaperazon	-	-	-	-	-	-	46,67	-	-	-
Florfenikol	-	-	-	-	0	0	-	-	-	0
Ampisilin	0	45,8	6-16	100	5,9	-	0	40	-	2,2
Linkomisin	100	70,8	-	-	100	-	100	-	52,4	-
Sulfametaksazol Trimetoprim	-	-	-	0	-	-	20	0	9,6	0
Eritromisin	0	-	-	17	-	-	80	10	23,9	-
Sefalotin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tulatromisin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0

<sup>9,10</sup>Duyarlılık çalışması cins (*Pasteurella spp.*) düzeyinde yapılmıştır.

<sup>11,12</sup>Oksitetrasiklin yerine tetrasiklinler bu başlık altında değerlendirilmiştir.

Alexander ve ark. (2013), tulatromisinin kullanımının onaylanmasından sonra Kanada’da yapılan çalışmada, Kanada’nın batısındaki genel besi sığırı populasyonunda *M. haemolytica*’nın tulatromisine karşı direncinin düşük olduğunu ve 3 yıl süreyle değişmediğini göstermişlerdir. Naccari ve ark. (2015), koyunlarda *M. haemolytica* suşlarını tulatromisine yüksek duyarlı, enrofloksasine duyarlı, ampisilin, amikasin, thiamfenikol, oksitetrasiklin ve tilmikosine düşük duyarlı bulunurken, gentamisine dirençli bulunmuştur. Clothier ve ark. (2012), keçi pulmoner dokularından elde edilen 45 adet *M. haemolytica*, 11 adet *P. multocida* ve 11 adet *B. trehalosi* izolatu üzerinde yaptığı çalışmada; *M. haemolytica* izolatlarının tümünü (%100), tulatromisin, trimetaksazol-trimetoprim, florfenikol ve gentamisine, %13,3’ünü penisiline, %97,8’ini

enrofloksasine, %93,3'ünü oksitetrasikline ve %97,8'ini ampisiline duyarlı tespit etmişlerdir. Diker ve ark. (1994), pnömoni bulguları gösteren koyun akciğerlerinden izole ettikleri *M. haemolytica* suşlarının tamamının penisilin, oksitetrasiklin, streptomisin, eritromisin ve ampisilin'e karşı duyarlı, kloramfenikol ve linkomisin'e karşı %100 direnç olduğunu ortaya koymuşlardır. Gündüz ve Erganiş (1998), sığırlardan izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının %75'inin penisilin, %70,8'inin linkomisin ve %45,8'inin ampisiline dirençli olduğunu bulmuştur. Rolinski ve ark. (1999), koyunlardan izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının oksitetrasiklin, streptomisin, ampisilin, neomisin, kloramfenikol ve nitrofurantoin'e karşı düşük düzeyde (%6-16) direnç gösterdiğini tespit etmişlerdir. Gürbüz ve Şahin (2003), koyun akciğerlerinden izole edilen 29 suş üzerinde yapılan antibiyotik duyarlılık çalışmasında sulfametaksol-trimethoprim, enrofloksasin, danofloksasin ve sefuroksim sodyuma %100 duyarlılık tespit etmiştir. Aynı çalışmada streptomisin ve tertrasikline %93,3, penisilin G(10 IU) ve gentamisine karşı %96,5 duyarlılık tespit edilirken, suşların tamamının ampisiline dirençli, %83'ü oksitetrasikline, %82,4'ü amoksisilin-klavulanik aside ve %17'si eritromisine dirençli bulunmuştur. Öztürk ve Çorlu (2006), koyunlardan izole ettikleri *Pasteurella spp.* suşlarının tamamının spektinomisin, gentamisin ve linkomisine dirençli, enrofloksasin ve florfenikole duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada suşların %94,1'inde ampisiline, %88,2'sinde oksitetrasikline duyarlılık tespit edilmiştir. Berge ve ark. (2006), 39 *M. haemolytica* suşunun tamamının amoksisilin-kalvulanik asit, seftiofur, siprofloksasin ve florfenikole duyarlı, izolatların %5'inin tetrasikline dirençli olduğunu bulmuşlardır. Öztürk ve Civelek (2007), *Pasteurella spp.* suşlarını oksitetrasiklin, amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin, amoksisilin ve neomisine %100, eritromisine %20, sulfametaksazol-trimetoprim %80, sefaperazon ve gentamisine ise %53,33 duyarlı bulmuşlardır. İzolatların tamamını linmokisine dirençli bulmuşlar, fakat *Pasteurella spp.* genusunda tür düzeyinde identifikasyon yapılmamıştır. Tel ve Keskin (2010), pnömonili koyun akciğerlerinden izole ettikleri *M. haemolytica* suşlarının 30'unda sulfametaksol-trimethoprim ve norfloksasine %100 duyarlılık, gentamisin ve streptomisine %97 duyarlılık, eritromisine %90, tetrasikline %87, ampisiline %60, amoksisiline ise %30 duyarlılık tespit etmişlerdir. Solmaz ve İlhan (2011), Van bölgesindeki pnömonili koyunlardan elde ettikleri 21 izolat üzerinde yaptıkları antibiyotik duyarlılık

çalışmasında enrofloksasin ve sulfametaksazol/trimetoprime %90,4, eritromisin, kloramfenikol ve oksitetrasikline %76,1, gentamisine %71,4 ve penisilin G, ampisilin/sulbaktam ve linkomisine %47,6 oranında duyarlılık tespit etmişlerdir.

Bu çalışma belirlenen enrofloksasin dirençliliği Gürbüz ve Şahin (2003), Öztürk ve Çorlu (2006), Solmaz ve İlhan (2011), Clothier ve ark. (2012) ve Naccari ve ark. (2015)'in sonuçları ile uyumlu olup enrofloksasin'e karşı düşük bir direnç vardır. Bu çalışmada oksitetrasikline karşı %0 düzeyinde dirençlilik tespit edilmiş olup bu yönüyle Diker ve ark. (1994), Öztürk ve Civelek (2007), Rolinski ve ark. (1999), Berge ve ark. (2006), Öztürk ve Çorlu (2006), Clothier ve ark. (2012)'nin verileri benzerlik göstermektedir. Gentamisine karşı oluşan dirençlilik Tel ve Keskin (2010), Gürbüz ve Şahin (2003) ve Clothier ve ark. (2012) ile benzerlik göstermektedir. Kloramfenikol dirençliliği açısından Rolinski ve ark. (1999)'nin verileri ile benzerlik göstermekte olup, Diker ve ark. (1994)'in çalışmasından farklılık göstermektedir. Bu çalışmada sefaperazona karşı %0 direnç tespit edilmiş olup Öztürk ve Civelek (2007)'nin çalışmasından farklılık arz etmektedir. Yine bu çalışmada florfenikole karşı %0 direnç tespit edilmiş olup bu yönüyle çalışma Öztürk ve Çorlu (2006), Berge ve ark. (2006) ve Clothier ve ark. (2012) ile uyumludur. Ampisilin dirençliliği Gürbüz ve Şahin (2003) ile uyumlu olup diğer çalışmalarla farklılık göstermektedir. Linkomisin dirençliliği açısından bu çalışma diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada linkomisine karşı %100 direnç tespit edilmiştir. Trimetoprim-sulfametaksazol dirençliliği Öztürk ve Civelek (2007) ile yakınlık göstermektedir. Bu çalışmada eritromisine %0 direnç tespit edilmiştir. Bu sonuç Öztürk ve Civelek (2007) ile farklılık göstermektedir. Sefolotin dirençliliği %0 olup incelenen antibiyotik duyarlılık çalışmalarında sefalotine ilişkin bir değerlendirme yoktur. Tulatromisine karşı %0 direnç tespit edilen bu çalışma Clothier ve ark. (2012) ve Naccari ve ark. (2015)'in sonuçları ile uyumludur.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, Samsun İli ve çevresindeki işletmelerden elde edilen 325 adet pnömonili akciğer örneği üzerinde yapılan izolasyon ve identifikasyon çalışmaları sonucunda, 16 (%5) *Mannheimia haemolytica* suşu izole ve identifiye edildi. Bu çalışmada suşların tamamı A biyotipi olarak tespit edilmiş olup Türkiye’de yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur. Rutin teşhiste daha güvenilir ve hızlı olması bakımından VITEK sistemi tercih edilebilir bir identifikasyon sistemidir. Tüm suşların linkomisine yüksek dirençli olması sebebiyle koyun pnömoni vakalarında linkomisin tedavi seçenekleri arasından çıkarılmalıdır. Oksitetrasiklin, gentamisin, kloramfenikol, sefaperazon, florfenikol, eritromisin, sefalotin ve tulatromisine tüm suşlar duyarlı olduğu için bu antibiyotikler koyun pnömoni vakalarında tedavide önerilmektedir.

*M. haemolytica* kaynaklı pnömoni olgularında izole edilen suşların gösterdikleri farklı antibiyotik direnç profilleri izole edildikleri bölgeye ve yıllara göre değişiklik gösterebilmektedir. Yanlış antibiyotik kullanımı sonucu yeni antibiyotik direnç profilleri şekillenebilmektedir. Bakım besleme koşullarını düzelterek stres faktörlerini ortadan kaldırmak ve aşılama tedbirleri gibi koruyucu önlemleri ön plana çıkartmak antibiyotiklere olan talebi en az düzeye indirecektir. Antibiyotiklerin reçete harici kullanımı da kesinlikle önlenmelidir. Çalışmada her ne kadar az sayıda suş (*Mannheimia haemolytica*) izole edilmiş olsa da bu ve daha sonra yapılacak başka fenotipik ve genotipik karakterizasyon çalışmaları, ileride gerçekleştirilecek hastalık kontrol çalışmalarına, özellikle de aşı geliştirme çalışmalarına ışık tutacaktır.

## KAYNAKLAR

- Abdullah KM, Lo RY, Mellors A. Cloning, nucleotide sequence, and expression of the *Pasteurella haemolytica* A1 glycoprotease gene. J Bacteriol 1991;173:5597-5603.
- Ackerman MR, Brodgen KA. Response of the ruminant respiratory tract to *Mannheimia* (*Pasteurella haemolytica*). Microbe Infect 2000;2(9):1079-1088.
- Adamu JY. *Mannheimia haemolytica*: Phylogeny and genetic analysis of its major virulence factors. Isr J Vet Med 2007;62(1):6-13.
- Adlam C. The structure function and properties of cellular and extracellular component of *Pasteurella haemolytica*. "in *Pasteurella* and *Pasteurellosis*". Ed. by Adlam and JM Rutter. Academic Press Inc. Newyork 1989;75-94.
- Adlam C, Rutter JM. *Pasteurella* and *Pasteurellosis*. Academic Press, London, UK, 1989;75-92.
- Alexander TW, Cook S, Klima CL, Topp E, McAlister TA. Susceptibility to tulatromycine in *Mannheimia haemolytica* isolated from feedlot cattle over a 3-year period. Frontiers in Microbiol. 2013;4(297):1-8.
- Altuğ N, Özdemir R, Cantekin Z. Ruminantlarda Koruyucu Hekimlik: I. Aş Uygulamaları. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2013;10(1):33-34.
- Angen Ø, Mutters R, Caugant DA, Olsen JE, Bisgaard M. Taxonomic relationships of the *Pasteurella haemolytica*-complex as evaluated by DNA-DNA hybridizations and 16S rRNA sequencing with proposal of *Mannheimia hemolytica* com. nov., *Mannhaemia granulomatis* com. nov., *Mannheimia glucosida* sp. nov., *Mannheimia ruminalis* sp. nov., *Mannheimia varigena* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1999;49:67-86.
- Angen Ø, Ahrens P, Bisgaard M. Phenotypic and genotypic characterization of *Mannheimia* (*Pasteurella*) *haemolytica*-like strains isolated diseased animals in Denmark. Vet Microbiol 2002;84:103-114.
- Arda M, Minbay A, Laleoğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS. Fakültatif anaerobik gram negatif çomaklar, Özel Mikrobiyoloji, N. Aydın (ed), No:26, Medisan Yayın Serisi, Ankara, 1999.
- Aslan V. Solunum Sistemi Hastalıkları. In "Evcil Hayvanların İç Hastalıkları", Mimoza yayınları, Konya, 1994.
- Aydın N. Pasteurellaceae familyası: Arda M, Minbay A, Laleoğlu N, Kahraman M, Akay O, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS. Özel Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji ve Mikotik İnfeksiyonlar. Medisan Yayın serisi No:26, 4.Baskı Ankara. 1997;64-74.



- Aydın N, Paracıkoğlu J. Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). İlke Emek Matbaacılık Yayıncılık, Ankara. 2006; 17.Bölüm, s.186.
- Aydın N. *Pasteurella*, *Mannheimia*, *Haemophilus* ve *Actinobacillus* İnfeksiyonları. Veteriner Mikrobiyoloji. Aydın, N., Paracıkoğlu, J. İlke Emek Yayınları, Ankara 2006; 173-193.
- Ayers JL. Respiratory tract diseases, Extension Goat Handbook, SB Guss; Pennsylvania State U, University Park, 1992.
- Bakke T. The occurrence of mycoplasma and bacteria in lungs from sheep in Southern Norway. Acta Vet Scand 1982;23:235-247.
- Blackall PJ, Bojesen AM, Christensen H, Bisgaard M. Reclassification of (*Pasteurella*) *trehalosias* *Biberstenia trehalosi* gen. nov., comb. nov. Int. J. Syst. Evo. Microbiol 2007;57:666-674.
- Blanco-Viera FJ, Jaramillo-Meza L, Aguilar-Romero F. Serotypes of *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica* isolated from pneumonic lesions in cattle and sheep from Mexico. Revis Lat Amer Microbiol 1995;37(2):121-126
- Baysal T, Güler L. Konya yöresindeki kuzu ve oğlakların enzootik pnömonilerinden bakteriyel etken izolasyonu. Veterinarium 1992;3:1-5.
- Berge ACB, Sicho WM, Craigmili AL. Antimicrobial susceptibility patterns of respiratory tract pathogens from sheep and goats. JAVMA 2006;229(8):1279-1281.
- Biberstein EL, Gills MG, Knight H. Serological types of *Pasteurella haemolytica*. Corn. Vet. 1960;50:283-300.
- Biberstein EL, Gills MG. The relation of the antigenic types to the A and T types of *Pasteurella haemolytica*. J Com Path 1962;72:316-320.
- Biberstein EL. Biotyping and serotyping of *Pasteurella hemolytica*: Bergen T and No RJ (Eds.) Methods in Microbiology, Academic Press Inc. Newyork, 1978;253-267.
- Biberstain EL. Our understanding of the Pasteuralleceae. Can J Vet Res 1990; 54: 78-82.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Performance standards for antimicrobial susceptibility testing., Twenty-first informational supplement approved standard M100-S21, v. 31, Wayne, PA. 2011,76-79.
- Clinkenbeard KD, Upton ML. Lysis of bovine platelets by *Pasteurella haemolytica* leukotoxin. Am. J. Vet. Res. 1991;52:453-457.

- Clothier KA, Joann M. Kinyon, Ronald W. Griffith *Antimicrobial susceptibility patterns and sensitivity to tulathromycin in goat respiratory bacterial isolates.* Vet Microbiol 2012;156:178-182.
- Collier JR. Significants of bacteria in bovine respiratory disease JAVMA 1968; 153(12):1645-1651.
- Craft DL, Chengappa MM, Carter GR. Differentiation of *Pasteurella haemolytica* biyotipes A and T with lectins. Vet Rec 1987;120(18):393.
- Czuprynski CJ, Noel EJ, Adlam C. Modulation of bovine neutrophil antibacterial activities by *Pasteurella haemolytica* A1 purified capsular polysaccharide. Microb Pathog 1989;6:133-141.
- Czuprynski CJ, Noel EJ, Adlam C. Interaction of bovine alveolar macrophages with *Pasteurella haemolytica* A1 in vitro: modulation by purified capsular polysaccharide. Vet Microbiol 1991;26:349-358.
- Çetinkaya E, Ayhan K. Mikrobiyolojide kullanılan bazı moleküler teknikler. Karaelm. F Müh Derg 2012;2(1);53-62.
- Deressa A, Asfaw Y, Lubke B, Kyule MW, Tefera G, Zessin KH. Intern J Appl Res Vet 2010;8(2):101-108.
- Diker KS, Akan M, Haziroğlu R. Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic ovine lungs, Vet Rec 1994;134(23):597-598.
- Diker KS. 8. Moleküler Tanı Rutin Veteriner Mikrobiyolojide Neleri Değiştirdi? Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrabiyojoloji Kongresi 4-7 Haziran 2014, Swisotel, Ankara; 58-59
- Erganiş O. Mikrobiyoloji ve İmmunoloji, Sağlık Bakanlığı Kon. Sağ. Bil. Ens. Yay, No.2, Konya, 1992.
- Ewers C, Lbke-Becker A, Wieler LH. *Mannheimia haemolytica* and the pathogenesis of enzootic bronchopneumonia. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2004; 117(3- 4):97-115.
- Frank GH. The role of *Pasteurella hemolytica* in the bovine respiratory disease complex. Vet Med 1986;12:841-846.
- Fodor L, Varga J, Hajtos L, Szemeredi CY. Serotypes of *Pasteurella haemolytica* izolated from sheep, goats and calves. Zbl Vet Med B 1984;31:446-469.

- Fodor L, Varga X, Hajtos I, Moynar T. (1999) Serotypes of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* isolated from farm animals in Hungary, *Zentralbl. Veterinarmed*, 46(4):241–247.
- Gatewood DM, Fenwick BW, Chengappa MM. Growth condition dependent expression of *Pasteurella haemolytica* A1 outer membrane proteins, capsule, and leukotoxin. *Vet Microbiol* 1994;41:221-33.
- Gilmour NJL, Gilmour JS. Pasteurellosis of sheep: *Pasteurella* and Pasteurellosis. In: Adlam C and Rutter JM(Eds.) Academic Press Inc. Newyork, 1989;223-262.
- Güler L. Pnömonili koyun ve keçilerden mikoplazmaların izolasyonu, identifikasyonu ve bazı antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 1993.
- Güler L, Baysal T, Gündüz K, Erganiş O, Kaya O, Orhan G. Koyun ve keçilerden izole edilen *Pasteurella hemolytica* suşlarının biyotip ve serotiplendirilmesi, *Veterinarium* 1996;7(1-2):5-13.
- Gündüz K, Erganiş O. Pnömonili sığır akciğerlerinden izole edilen *Pasteurella haemolytica* suşlarının biyotiplendirmesi ve serotiplendirmesi. Doktora tezi. SÜ Sağ Bil Enst, Konya, 1998.
- Gürbüz A, Şahin M. Sığır ve koyunlara ait pnömonili akciğerlerden *Pasteurella haemolytica*'nın izolasyonu, identifikasyonu, biyotiplendirmesi ve Antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2003;9(2):169-175.
- Hajtos I, Fodor L, Varga J, Malik G. Incidence of *Pasteurella haemolytica* serotypes and associated diseases in sheep flocks. *Magy Ao Lapja* 1985;40(8):473-479
- Hawari AD, Hassawi DS, Sweiss M. Isolation and identification of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in sheep and goats using biochemical test and random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *J Biol Sci* 2008;8(7):1251-1254
- Hazıroğlu R, Milli UH. Veteriner Patoloji. Tamer Matbaacılık, Ankara, Aralık 1998; Cilt 2, s. 76-79.
- Hindson JC, Winter AC. Manual of Sheep Disease, 2. Ed, Blackwell Publishing Company, Oxford, 2002
- İlhan Z, Keleş İ. Biotyping and serotyping of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* isolated from lung samples of slaughtered sheep in the Van region. *Turk J Vet Anim Sci* 2007;31(2):137-141.

- Jeyaseelan S, Sreewatsan S, Maheswaran SK. Role of *Mannheimia haemolytica* leukotoxin in the pathogenesis of bovine pneumonic pasteurellosis. Anim Health Res 2002;3: 69- 82.
- Jones FS. A study of Bacillus bovisepcticus. J Exp Med 1921;34: 561-577
- Kaya O, Erganiş O. Koyun ve kuzu pnomonileri üzerine etiyolojik survey. Veterinarium 1991;2(3-4):27-29
- Kırkan Ş, Kaya O. Aydın yöresinde koyunların solunum sisteminde infeksiyon nedeni *Mannheimia (pasteurella) haemolytica*'nın biyotip ve serotip tayini, elektroforez ve PCR ile tanısı, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Doktora Tezi, 2003;33-35.
- Kaya O, Kırkan Ş. Aydın bölgesindeki sağlıklı ve pnömoni şüpheli koyunlardan *Pasteurella haemolytica*'nın izolasyonu, biyotip tayini ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Bornova Vet. Kont. Araş. Ens. Derg. 1999;24(38):21-26
- Mannheim W, Pohl S, Hollender R. On the taxonomy of Actinobacillus, Haemophilus, and Pasteurella: DNA base composition, Respiratory quinones, and biochemical reactions of representative collection cultures. Zentralbl Bakteriologie 1980;246:512-540.
- Mannheim W. Taxonomic implication of DNA relatedness and quinone patterns in Actinobacillus, Pasteurella and Haemophilus. In: Klian M., Fredriksen W., Biberstein E.L.(eds.): Haemophilus, Pasteurella and Actinobacillus. Academic Press, UK. 1981;265-280
- Maráz O. Comparative study of species Actinobacillus lignerisi and Pasteurella haemolytica. I. Actinobacillus lignerisii BRUMPT, 1910; emend. Zentralbl Bakteriologie 1996a; 209:212-232.
- Markey B, Leonard F, Archambault M, Cullinane A, Maguire D. Pasteurella, Mannheimia, Biberstenia and Avibacterium Species. In: Edwards, R. (ed.): Clinical Veterinary Microbiology. Mosby Elsevier, UK. 2013;307-315.
- Martin JS. Pneumonia in seep, [ag.info@omaf.gov.on.ca](mailto:ag.info@omaf.gov.on.ca), 1999.
- Mckerral LJ, Reggie YC. Construction and characterization of an acapsular mutant of *Mannheimia haemolytica* A1. Infect Immun 2002;70:2622-2629.
- Mevius DJ, Hartman EG. In vitro activity of 12 antibiotics used in veterinary medicine against *Manhaemia(Pasteurella) haemolytica* and *Pasteurella multocida* from calves in the Netharlands. Tijdschr Diergeneeskde 2000;125(5):147-152.
- Naccari V, Giofrè F, Naccari F. Tulathromycin in the treatment of respiratory infectious in Sheep. Int J Anim Vet Adv 2015;7(2):34-39

- Newsom I, Cross F. Some bipolar organisms found in pneumonia in sheep. J Am Vet Med Assoc 1932;80:711-719.
- Oduqbo MO, Odama LE, Umoh JU, Lomarde AG. *Pasteurella multocida* pneumonic infection in sheep: Prevalence, clinical and pathological studies Small Rum Res 2006;66:273-277.
- Ogunnariwo JA, Woo TK, Lo RY, Gonzalez GC, Schryvers AB. Characterization of the *Pasteurella haemolytica* transferrin receptor genes and the recombinant receptor proteins. Microb Pathog 1997;23:273-284.
- Otlu S. Kars yöresinde koyun pnömonilerinde mikoplazma'ların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi. Etlik Vet Mikrobiol Derg 1997;9(1):157-174.
- Özgen E. Moleküler tanı testlerinin direnç tayininde kullanımı: Gram negatif bakteriler için hızlı moleküler tanı yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, ANKEM Derg 2012;23(Ek2):86-91.
- Öztürk D, Çorlu M. Pnömonili koyun akciğerlerinden izole edilen bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. SÜ Vet Bil Derg 2006;22(1-2):59-63.
- Öztürk D, Civelek T. Burdur ve Isparta yöresi pnömonili koyunlardan izole edilen bakteriyel etkenler ve antibakteriyel duyarlılıkları. SÜ Vet. Bil Derg 2007; 23(3-4):45-50.
- Pandher K, Murphy GL, Confer AW. Identification of immunogenic, surface-exposed outer membrane proteins of *Pasteurella haemolytica* serotype 1. Vet Microbiol 1999;65:215-226.
- Pegram RG. Serological types of *Pasteurella haemolytica* isolated from sheep and goats in the Somali Democratic Republic. Trop Animal Hlth Prod 1974;6:189-191.
- Puchalski A, Urban-Chmiel R, Dec M, Wernicki A. An electrophoretic characterization of iron-transporting proteins in *Mannheimia haemolytica* A1. Polish J Vet Sci 2013;16:527-532.
- Reggie YCL, McKerral LJ, Hills TL, Kostrzynska M. Analysis of the capsule biosynthetic locus of *Mannheimia (Pasteurella)haemolytica* A1 and proposal of a nomenclature system. Infect Immun 2001;69: 4458- 4464.
- Rice JA, Carrasco- Medina L, Hodgins DC, Shewen PE. *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. Anim Health Res Rev 2008;8:117-128.
- Rolinski Z, Sobol M, Skrobisz J. A computer analysis of antibiograms of microorganisms isolated from cattle and sheep. Med Water 1999;55(1):30-33.

- Ryan KA, Lo RYC. Characterization of a CACAG pentanucleotide repeat in *Pasteurella haemolytica* and its possible role in modulation of a novel type III restriction-modification system. Nucl Acids Res 1999;27(6):1505-1511.
- Shewen PE, Wilkie BN. Evidence for the *Pasteurella haemolytica* cytotoxin as a product of actively growing bacteria. Am J Vet Res 1985;46:1212-1214.
- Shewen PE, Lee CW, Perets A, Hodgins DC, Baldwin K, Lo RY. Efficacy of recombinant sialoglycoprotease in protection of cattle against pneumonic challenge with *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* A1. Vaccine 2003;21:1901-1906.
- Stevens PK, Czuprynski CJ. *Pasteurella haemolytica* leukotoxin induces bovine leukocytes to undergo morphologic changes consistent with apoptosis in vitro. Infect Immun 1996;64:2687-2694.
- Smith GR. The Characteristics of two types of *Pasteurella haemolytica* associated with different pathological conditions in sheep. J Path Bacteriol 1961;81:431-440.
- Squire PH, Smiley DW, Croskell RB. Identification and extraction of *Pasteurella haemolytica* membrane proteins. Infect Immun 1984;45 (3):667-673.
- Solmaz H, İlhan Z. Pnöymonili koyun akciğerlerinden izole edilen *Mannheimia haemolytica* izolatlarının bazı antibiyotiklere in vitro duyarlılıklarının belirlenmesi. Adana Vet Kont Araş Ens Derg 2011;1:15-18
- Sun Y, Clinkenbeard KD, Clarke C, Cudd L, Highlander KS. *Pasteurella haemolytica* leukotoxin of bovine lymphocytes involves DNA fragmentation. Vet Microbiol 1999;65:153-166.
- Sutherland AD, Redmond J. Cytotoxin from an ovine strain of *Pasteurella haemolytica*: characterization studies and partial purification. Vet Microbiol 1986;11:337-347.
- Tafera G, Smola J. *Pasteurella haemolytica* complex of *Pasteurella* sensu stricto as new genus *Mannheimia*: changes in taxonomy. Vet Med Czech 2001;46 (4):119-124.
- Tafera G, Smola J. The utility of the ENTERO Rapid 24 kit for the identification of *P. multocida* and *M. haemolytica*, Vet Med Czech 2002;47(4):99-103.
- Tel OY, Keskin O. Koyun akciğerlerinden *Pasteurella multocida* ve *Mannheimia haemolytica* izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılığı, YY Üniv Vet Fak Derg 2010; 21(1):31-34.
- Quin PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. Clinical Veterinary Microbiology. Elsevier Health Sci 1999; p:254-259.

Quin PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. *Veterinary Microbiology and Microbial Diseases*. Blackwell, UK, 2004.

Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (6. Edition). Lippincott Williams & Wilkins. 2006;Chapter 8. p:459-467.

Yates WDG. A review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle. *Can J Com Med* 1982;46:256-263.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: İlhan ŞAHİN

Doğum Yeri: Korgan/ORDU

Doğum Tarihi: 25.06.1978

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): Samsun Veteriner Sağlık Meslek Lisesi-1996  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi-2001

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Adıyaman Tarım İl Müdürlüğü  
(Samsat İlçe Tarım Müdürlüğü), 1998-2002

Konya İl Tarım Müdürlüğü  
(Derebucak, Derbent ve Kulu İlçe Tarım  
Müdürlükleri), 2002-2007

Samsun Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü  
(19 Mayıs İlçe Gıda Tarım ve Hayvancılık  
Müdürlüğü), 2007-2015

Samsun Limanı Veteriner Sınır Kontrol Noktası  
Müdürlüğü, 2015 yılı ve sonrası

E-posta: ilhansahin55@hotmail.com



