

T.C
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİĞİR VE KOYUNLARA AİT PNÖMONİLİ
AKCİĞERLERDEN *Pasteurella haemolytica*'NİN
İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU,
BİYOTİPLENDİRİLMESİ VE ANTİBİYOTİKLERE OLAN
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

T.C. TÜRKERÜBNE LİM
DOKÜMANTASYON BİRİMİ

Veteriner Hekim
Abdurrahman GÜRBÜZ

138207

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Yrd.Doç.Dr. Mihat ŞAHİN

2003-KARS

T.C
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİĞİR VE KOYUNLARA AİT PNÖMONİLİ
AKCİĞERLERDEN *Pasteurella haemolytica*'NİN
İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU,
BİYOTİPLENDİRİLMESİ VE ANTİBİYOTİKLERE OLAN
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

Veteriner Hekim
Abdurrahman GÜRBÜZ

DOKTORA TEZİ

138207

DANIŞMAN
Yrd.Doç.Dr. Mitat ŞAHİN

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenmiştir. Proje No: 2001 VF-022

2003-KARS

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

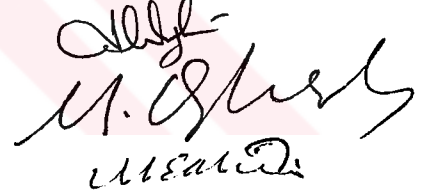
biyoloji ABD...Doktora/Yüksek Lisans programı çerçevesinde Vet. Hek. Abdurrahman GÜRBÜZ tarafından hazırlanmış olan " Sığır ve koyunlara ait pnömonili akciğerlerden *Pasteurella haemolytica*'nın izolasyonu, identifikasyonu, biyotiplendirilmesi ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oybirliği..... ile kabul/ret edilmiştir.

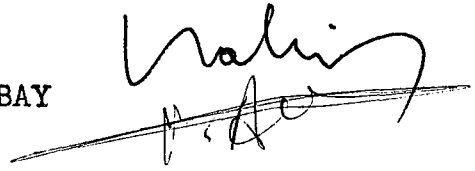
Tez Savunma Tarihi 31...../01.../2003

Adı Soyadı


Başkan Doç.Dr.H.Basri GÜLCÜ
Üye Doç.Dr.M.Özkan ARSLAN
Üye Yrd.Doç.Dr.Mitat ŞAHİN
Üye Yrd.Doç.Dr.Salih OTLU
Üye Yrd.Doç.Dr.H.İbrahim ATABAY

İmza





Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun...28.02.03.....
gün ve ..3/10... sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Yrd.Doç.Dr. Ayla ÖZCAN

Enstitü Müdürü

I

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İçindekiler	I-II
Tablo listesi	III
Simgeler ve Kısaltmalar	IV
Önsöz	V
Teşekkür	VI
1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	1-18
1.1. Giriş	1
1.2. Genel Bilgiler	3
2. MATERYAL VE METOT	19-28
2.1. Materyal	19
2.1.1. Örnekler	19
2.1.2. Standart <i>P. haemolytica</i> suşu	20
2.1.3. Antibiyotik diskleri	20
2.1.4. Besiyerleri	20
2.1.4.1. İzolasyon besiyerleri	20
2.1.4.1.1. Blood agar base	20
2.1.4.2. İdentifikasyon besiyerleri	21
2.1.4.2.1. Mac Conkey agar	21
2.1.4.2.2. Bromcreosol purple broth	21
2.1.4.2.3. Brain Heart infusion broth	21
2.1.4.2.4. İndol test ortamı	22
2.1.4.3. Antibiyotik duyarlılık testinde kullanılan besiyerleri	22
2.1.4.3.1. Trypton Soya broth	22
2.1.4.3.2. Müller-Hinton agar	22
2.1.5. Ayıraçlar	23
2.1.5.1. İndol ayıracı	23
2.1.6. Solüsyonlar	23
2.1.6.1. Karbonhidrat solüsyonları	23

II

2.2. Metot	24
2.2.1. Mikrobiyolojik muayene	24
2.2.1.1. Örneklerin mikroskopik bakışı ve <i>Pasteurella</i> izolasyonu	24
2.2.1.2. <i>Pasteurella</i> suşlarının identifikasyonu	24
2.2.1.2.1. Gram boyama ve hemoliz özelliğinin belirlenmesi	25
2.2.1.2.2. Oksidaz testi	25
2.2.1.2.3. Katalaz testi	25
2.2.1.2.4. İndol testi	26
2.2.1.2.5. Mac Conkey agarda üreme	26
2.2.2. <i>P. haemolytica</i> suşlarının biyotiplendirilmesi	27
2.2.2.1. Koloni morfolojisine göre biyotiplendirme	27
2.2.2.2. Karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirme	27
2.2.3. <i>P. haemolytica</i> suşlarının antibiyotiklere olan duyarlılıklarının tespiti	28
3. BULGULAR	29-33
3.1. Mikrobiyolojik muayeneler	29
3.2. <i>P. haemolytica</i> türlerinin biyokimyasal özellikleri	30
3.3. <i>P. haemolytica</i> suşlarının biyotiplendirilmesi	31
3.3.1. Koloni formasyonuna göre biyotiplendirme	31
3.3.2. Karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirme	31
3.4. Antibiyotiklere duyarlılık testi	32
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	34-40
5. ÖZET	41-42
6. SUMMARY	43-44
7. KAYNAKLAR	45-58
8. ÖZGEÇMİŞ	59

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. <i>Pasteurella haemolytica</i> suşlarının karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirme kriterleri	7
Tablo 2. Materyalin kaynaklara göre dağılımı	19
Tablo 3. <i>Pasteurella</i> türlerinin identifikasyonundaki kriterler	26
Tablo 4. Pnömonik sığır ve koyun akciğerlerinden bakteriyel etken izolasyonu ve <i>P. haemolytica</i> identifikasyonunun kaynaklara göre dağılımı	29
Tablo 5. Sığır ve koyunlara ait pnömonili akciğerlerden identifiye edilen <i>P. haemolytica</i> suşlarının biyokimyasal özellikleri	30
Tablo 6. Sığırlara ait pnömonili akciğerlerden identifiye edilen <i>Pasteurella haemolytica</i> suşlarının karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirilmesi	31
Tablo 7. Koyunlara ait pnömonili akciğerlerden identifiye edilen <i>P. haemolytica</i> suşlarının karbonhidrat fermantasyonuna göre biyotiplendirilmesi	32
Tablo 8. <i>Pasteurella haemolytica</i> suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları	33

IV

Simgeler ve Kısaltmalar

BHIB : Brain Heart Infusion Broth

BHV-1: Bovine Herpes Virus 1

BVD : Bovine Viral Diarrhea

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

FCA : Freund Complete Antigen

FIA : Freund Incomplete Antigen

IBR : Infections Bovine Rhinotracheitis

IgA : Immunglobulin A

IHA : Indirect Haemagglutination Assay

KBM : Kars Belediye Mezbahanesi

KSCN : Potasyum tiyosiyanat

LPS : Lipopolisakkarid

M koloni : Mukoid koloni

O antijeni: Somatik antijen

OMP : Outer Membrane Proteins

ÖETK : Özel Et ve Tavuk Kombinasyonu

PFGE : Pulsed-Field Gel Electrophoresis

PI-3 : Para Influenza-3 virus

RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA

RSV : Respiratory Syncytial Virus

S Koloni : Smooth koloni

SDS-PAGE:SodiumDodecylsulphate-PolyacrylamideGel
Electrophoresis

TSB : Trypton Soya Broth

V Faktör = (DNP/NAD) : Diphosphoridine Nucleotide/ Nikotinamide
Adenine Dinucleotide

X Faktör : Haemin

Önsöz

Bu araştırma; Kars ilindeki sığır ve koyunlarda *P. haemolytica* üzerine yapılan ilk çalışma olması açısından önem taşımaktadır. Aynı zamanda ileriki dönemlerde pnömonilerin etiyolojisi üzerine yapılacak çalışmalara da ışık tutması bakımından temel oluşturma niteliğindedir.

Bölgede koyun kesiminin azlığı nedeniyle materyal temini oldukça uzun süreli ve güç şartlarda yapılmıştır. İzolasyonu ve identifikasyonu tamamlanan *P. haemolytica* suşlarının derin dondurucuda saklanma sürelerinin kısa olması nedeniyle, sürekli pasajlarının yapılmasını zorunlu kılmıştır. Bu işlem esnasında suşların uzun süreli saklanabilmesi için çeşitli yöntemler başvurulmuştur. Bu amaçla; BrainHeart Infusion Broth'ta üretilen *P. haemolytica* suşlarının kapillar cam borulara alınıp, iki ucu alevde kapatıldıktan sonra -18°C 'de 40 gün, Karbonhidrat fermentasyon besiyerlerinde *P. haemolytica* (A biyotipleri arabinoz ve ksiloz, T biyotipleri salisin ve trehalozda) suşlarının oda ısısında 60 –80 gün canlılığını koruduğu tespit edildi.

Son yıllarda *Pasteurella haemolytica*'nın antijenik ve genetik yapıları ile biyokimyasal özelliklerinin incelendiği bazı yurtdışı çalışmalarda araştırmacılar A biyotipine ait 13 serotipten 12'sini ($A_1, A_2, A_5, A_6, A_7, A_8, A_9, A_{12}, A_{13}, A_{14}, A_{16}, A_{17}$) *Mannheimia*(*Pasteurella*) *haemolytica*, A_{11} serotipini *Mannheimia glucosida*, T biyotiplerine ait serotipleri (T_3, T_4, T_{10}, T_{15}) ise *Pasteurella trehalosi* olarak yeniden adlandırmasını ve sistematize edilmesini önermektedirler. Bu görüş henüz Bergey's Manuel of Sistematik Bacteriology'nin yeni basımlarında yer almadığından öneri düzeyinde bulunmaktadır. Bu nedenle tez çalışmamızda bakterinin sistematikteki *Pasteurella haemolytica* adı kullanılmıştır.

Teşekkür

Doktora tez çalışmasının yürütülmesinde desteğini gördüğüm Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve danışman hocam sayın Yrd. Doç.Dr. Mitat ŞAHİN'e, kısa bir süre danışmanlığımı yapan ve desteğini gördüğüm Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof.Dr. Fuat AYDIN'a, tez izleme komitemde yer alan ve alakalarını esirgemeyen sayın Doç.Dr. M. Özkan ARSLAN ve sayın Yrd.Doç.Dr. Salih OTLU'ya, Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın Yrd. Doç. Dr. H. İbrahim ATABAY ve sayın Yrd. Doç. Dr. Oktay GENÇ'e, materyal temininde yardımlarını gördüğüm Kars Meslek Yüksekokulu Öğretim Üyesi sayın Yrd.Doç.Dr. Mehmet TUZCU'ya, Doktora tezini maddi yönden destekleyen Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna, konu hakkında her türlü desteğini gördüğüm Konya Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitü'sünden sayın Dr. Kadri GÜNDÜZ'e, doktora süresince sabır ve manevi güç aldığım eşim Ferah ve kızım Aybüke Asena'ya teşekkür ederim.

1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

1.1. GİRİŞ

İnsanlar yeterli gelişim ve sağlıklı beslenmek için hayvansal kökenli proteinlere ihtiyaç duymaktadırlar. Doğu Anadolu Bölgesi'nin özellikle de Kars ili'nin ekonomisi önemli ölçüde tarım ve hayvancılığa dayanmaktadır. Dünyada olduğu gibi bu yöre insanları da kırmızı et ve süt ihtiyaçlarının tamamına yakın kısmını koyun ve sığırlardan sağlamaktadırlar. Ancak olumsuz iklim şartları, yerli ırklardaki verim düşüklüğü, salgın hastalıklar, pazar bulunamaması gibi birçok faktör sığır ve koyun yetiştiriciliğini bulunması gereken yerden oldukça geriye götürmüştür. Bütün bu olumsuzlukların yanısıra, kırsal bölgeden şehirlere göç, meraların ıslah edilememesi, kışlık kaba ve konsantre yem ihtiyacının giderilememesi nedeniyle özellikle koyunculuk yöredeki cazibesini yitirmiştir.

Türkiye'nin Kuzey Doğu Anadolu Bölgesinde bulunan Kars ili, Ermenistan ve Gürcistan ile sınır bağlantısı bulunan bir serhat şehridir. Ayrıca İran ve Nahçıvan sınır giriş kapılarına da oldukça yakındır. Bu nedenle sınır girişlerinde alınan tedbirlere rağmen canlı hayvan nakilleri sonucunda birçok paraziter ve salgın hastalık tüm yurda yayılmaktadır.

Bölgede özellikle sonbahar ve kış mevsiminin sert geçmesi, hayvanların kapalı tip ahırlarda barındırılması, gece ile gündüz arasındaki ısı farkının fazla oluşu, beslenme yetersizlikleri ve stres gibi olumsuz faktörler solunum yolu hastalıklarını, özellikle de pnömonileri ön plana çıkarmaktadır.

Sığır ve koyun pnömonileri bakteriyel ve viral etkenlere dayanan kompleks bir etiyolojiye sahip olup, ekonomik kayıplar oluşturması nedeniyle bölgede oldukça önemli bir yere sahiptir (32,72,83). İnfeksiyonun oluşmasında *Pasteurella multocida* ve *Pasteurella haemolytica* önemli rol

oynamaktadır (15,17,45). Bu etkenlerden özellikle *P. haemolytica* kuzu ve buzaşılarda hastalığın şiddetli ve ölümcül seyretmesine neden olmaktadır (1,43,58,76).

Gelişmiş batılı ölkeler, evcil hayvanlarını birçok hastalıktan olduğu gibi pnömonik pasteurellosisten de korumak ve verim kayıplarını en aza indirmek amacıyla aşı geliştirme çalışmalarına devam etmektedirler (22,23,34,38).



1.2. GENEL BİLGİLER

Pasteurellosis; sığır ve koyunlarda, akciğerlerde nekrotik krupöz pnömoni, derialtında ödem, gastro–enteritis gibi bozukluklara yol açan, akut, subakut ve kronik seyirli infeksiyöz karakterde bir hastalıktır (7). *Pasteurella* grubu mikroorganizmalar, insanlarda ve hayvanlarda ortaya çıkan infeksiyonlarda primer ya da sekonder etken olarak gösterilmektedirler (61,107).

Pasteurellaceae ailesine bağlı etkenler; Gram negatif, aerobik veya fakültatif anaerobik olup, hareketsiz, kapsüllü, sporsuz, kokoid, oval, kısa küçük çomakçık veya flamenter tarzda mikroorganizmalardır. Fosfataz, katalaz ve oksidaz reaksiyonları pozitifdir. Glikozu asit oluşturarak fermente ederler ve nitratları nitritlere indirgerler (72). Sitrati kullanmaz, arjinin dihidrolaz, adonitol ve L-sorboz'a etki etmezler (91). Ayrıca *Pasteurellaceae* familyasına bağlı bakterilerin proteolitik etkileri yoktur, sütü koagüle etmezler ve jelatini eritmezler (7).

Pasteurellaceae familyasında *Pasteurella* dışında *Haemophilus* ve *Actinobacillus* cinsleri de yer almaktadır (7,15,18,24,71). *Pasteurella* cinsi aynı familyadaki *Haemophilus* ve *Actinobacillus* cinsleri ve *Enterobacteriaceae* familyasındaki *Yersinia* cinsi ile morfolojik ve biyokimyasal özellikleri yönünden karıştırılabilmektedir (24,102). *Yersinia*'lar; peritrik flagellaya sahip olup, 22-25 °C'de hareketlidirler. Oksidaz negatif olup, kanlı agarda hemoliz oluşturmazlar. Ayrıca safra tuzlu Mac Conkey agarda üreyebilme özellikleri ile *Pasteurella* cinsinden kolaylıkla ayırtedilirler (13). *Haemophilus* cinsi bakterilerin üremeleri için X (Haemin) ve V (DPN/NAD =Diphosphoridine nucleotide / Nikotinamide adenine dinucleotide) faktörlerine ihtiyaç duymaları; *Actinobacillus* ve *Pasteurella* cinslerinden ayırtedici özellikleridir (7,77). *Actinobacillus* cinsini *Pasteurella* cinsinden ayıran en önemli özellik;

dokulardan ilk izolasyonlarında granüllü, yapışkan ve hemolitik olmayan koloniler oluşturmasıdır. Ayrıca bu cinse bağlı türler üreaz pozitif olma özellikleri ile *P. haemolytica*'dan, indol negatif özellikleri ile de *P. aerogenes*'den ayrılırlar (7,18, 24,107).

Pasteurella cins ismi İtalyan kontu Trevisan tarafından, Louis Pasteur'e atfen tavuk kolerası etkeni üzerine yaptığı çalışmalarından dolayı verilmiştir (91). *Pasteurella* cinsi içinde ilk tespit edilen tür *Pasteurella multocida* olup, daha sonra fenotipik özelliklerine göre *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella pneumotropica*, *Pasteurella gallinarum*, *Pasteurella ureae* ve *Pasteurella aerogenes* tanımlanmıştır (91). Daha sonraki yıllarda ise *Pasteurella ureae*, *Actinobacillus ureae*; *Haemophilus avium*, *Pasteurella avium* olarak yeniden sistematize edilmiştir (15,105).

Pasteurella cinsi mikroorganizmalar, memelilerin ve kanatlıların sindirim ve üst solunum yolu mukoz membranlarında fakultatif patojen olarak bulunurlar ve vücut direncinin kırıldığı durumlarda infeksiyon oluştururlar (7,15,18,63).

Pasteurella cinsi içinde *P. multocida* sığırlarda; gastro-enteritis, derialtında ödem, akciğerlerde nekrotik krupöz pnömoni, hemorajik septisemi ve mastitise (7,14, 25,107), koyunlarda; gastro-enteritis ve pnömoniyeye sebep olmaktadır (7,25,42,82,107). *Pasteurella dagmatis*, kedi, köpek ve laboratuvar hayvanlarında solunum yolu infeksiyonlarına neden olur. *Pasteurella aerogenes*, domuzların barsak sisteminde kommensal olarak bulunur ve nadiren dişi domuzlarda abortlara sebep olur (105). Ayrıca *P. aerogenes*'in kobay, tavşan ve insanlardan da izole edildiği bildirilmektedir (84). *Pasteurella pneumotropica*, rodentlerin sekonder pnömonilerinden ve apselerinden sorumlu tutulmaktadır. Bu türler dışında, *Pasteurella canis* erkek köpeklerde, *Pasteurella stomatis* köpek ve kedilerde, *Pasteurella caballi* atlarda, *Pasteurella anatipestifer* ördek, tavuk, hindi ve sülünlerde, *Pasteurella anatis* ördeklerde, *Pasteurella gallinarum* kümes hayvanlarında, *Pasteurella avium*, *Pasteurella langaa*, ve *Pasteurella volantium* tavuklarda solunum yolu infeksiyonlarına sebep olmaktadır. *Pasteurella testudinis*; kaplumbağalarda apselere neden olur. *Pasteurella granulomatis*; Brezilya

sığırlarında fibrinogranulomatosis infeksiyonunun etkenidir (7,15,18,26,54,105). Evcil ruminantlarda hastalık etkeni olan diğer önemli bir tür de *P. haemolytica*'dir. Bu mikroorganizmanın özellikle koyun pnömonilerinde akciğer lezyonlarına neden olan sitotoksin (leukotoksin), endotoksin, kapsül, nöyroaminidaz gibi birçok virulens faktörleri bulunmaktadır (7,15,57). Bu nedenle *P. haemolytica* koyun ve kuzuların enzootik pnömoni ve septisemisinden, sığır ve domuzların pnömonik pasteurellosis'inden sorumlu tutulmaktadır (57,64,110). Ayrıca bu infeksiyonların dışında nadiren de olsa koyun ve sığırlarda mastitise neden olmaktadır (107).

Pasteurella multocida, 35-37 °C de kanlı agar ve nişasta dextrose agarda, genellikle mukoid (M) ya da smooth (S) koloniler oluşturur. İnsan, sığır, koyun ve tavşan üst solunum yollarından izole edilen, M koloni formu gösteren tüm *P. multocida* suşları kapsüllüdür. Ayrıca *P. multocida*'nın akut vakalardan izole edilen S koloni formundaki suşlarının bir kısmı kapsüllü, bir kısmı ise kapsülsüzdür (7,113). Bunlardan kapsüllü olanlar oblik ışık altında sarı-yeşil, mavi-yeşil renkte parlaklık oluştururken, kapsülsüz suşlarda bu renk oluşumu görülmez. Ayrıca kapsüllü suşlar zamanla kapsüllerini yitirir ve oblik ışık altında parlaklık göstermezler (113).

Pasteurella haemolytica, 0.3–1.0 µm çapında, 1.2–2.0 µm uzunluğunda sporsuz, kapsüllü, hareketsiz, genellikle pleomorfik, pnömonili dokulardan hazırlanan preparatlarda bipolar boyanan, Gram negatif bir mikroorganizmadır. Kanlı agarda 37 °C'de 24 saatlik inkübasyon sonucunda 2 mm çapında, yüzeyi hafif kabarık, düzenli ve düzgün sınırlı, parlak, açık gri renkte koloniler oluştururlar (7,15,18,91). *Pasteurella haemolytica*'nın % 7 koyun kanlı agarda dar hemoliz zonu oluşturması diğer *Pasteurella* türlerinden ayırıcı en önemli özelliğidir (17). Ayrıca *P. haemolytica* suşlarının koloni çaplarının küçük olması, Mac Conkey agarda üreyebilmesi, indol ve üreaz aktivitelerinin negatif olması diğer ayırıcı özellikleridir (7,12,15,69).

Pasteurella haemolytica, biyokimyasal ve kültürel özelliklerine göre A ve T olmak üzere iki biyotip'e ayrılmıştır. Biyotiplendirme işlemlerinde (Tablo.1) A biyotipleri için arabinozu, T biyotipleri için de trehalozu fermente

edebilme özellikleri baz alınmıştır (7,15,16,113). Bu iki biyotip taksonomik ve nükleik asitlerinin homolojileri yönüyle farklılıklar arz etmektedir (63).

Biyotiplendirmede şeker fermentasyon testlerinden arabinoz ve trehalozdan başka salisin ve ksiloz fermentasyonlarının da kullanılması gerekmektedir. Çünkü trehaloz ve salisinin T biyotipleri tarafından, ksiloz ve arabinozun da A biyotipleri tarafından diğer karbonhidratlara oranla daha fazla fermente edildiği tespit edilmiştir (15,68,69,93). **Ali ve ark.(4)**, A biyotipine ait suşların Rough (R) tip lipopolisakkarid, T biyotiplerine ait suşların ise Smooth (S) tip lipopolisakkaride sahip olduklarını bildirmektedirler.

Biyotiplendirmede şeker fermentasyonu en güvenilir yol olsa da bazı araştırmacılar arabinoz pozitif suşların biyotiplendirilmesinde çeşitli zorluklarla karşılaştıklarını bildirmektedirler (15,68,69). **Nakazawa ve Ishino (93)**, 113 *P. haemolytica* suşunun tamamını biyotip A olarak tespit ettiklerini, ancak bu suşlardan 86'sının arabinozu fermente etmemesi üzerine biyotiplendirme işlemini D-trehaloz, D- ksiloz, salisin, mannoz ve laktoz fermentasyonlarına göre belirlediklerini bildirmektedirler. **Güler ve ark.(68)**, koyunlardan izole ettikleri 119 *P. haemolytica* suşundan 110'unu biyotip A olarak belirlerken, bu suşlardan %34.5'nin arabinozu ve %71.8'inin ise ksilozu fermente ettiğini bu bilgiler ışığında ksiloz fermentasyonunun arabinoza göre daha sağlıklı olduğunu bildirmektedirler. **Nakazawa ve Ishino (93)**, ile **Güler ve ark.(68)**, A biyotipinin belirlenmesinde ksiloz fermentasyonunun, arabinoza göre daha kullanışlı olabileceğini savunmaktadırlar. **Wessman ve Hilker (125)**, *P. haemolytica* suşlarının karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirilmesinde, kullanılan indikatörün büyük rolü olduğunu ve içinde indikatör olarak bromthymol blue, bromcreosol purple ve phenol red olan 3 ayrı vasattaki çalışmalarında, phenol red broth'da salisinin, bromthymol blue bulunan vasatta ise arabinozun daha çok fermente edildiğini saptamışlardır.

Tablo.1. *Pasteurella haemolytica* suşlarının karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirme kriterleri (15).

Karbonhidratlar	Biyotip	Biyotip
	A	T
L-Arabinoz	+	-
Trehaloz	-	+
D-Ksiloz	+	-
Salisin	-	+

Pasteurella haemolytica suşlarının biyotiplendirilmesinde kullanılan bir diğer metot koloni morfolojisidir. Bu metotta A biyotipleri kanlı agarda 24 saatlik inkübasyonun sonunda 2 mm çapında, düzgün kenarlı ve açık gri renkli koloniler oluştururken, T biyotipleri daha büyük, merkezleri kahverenkli, daha koyu renkte koloniler oluştururlar (15).

Biyotiplendirmede kullanılan bir diğer yöntem de penisiline duyarlılık metodudur. Bu metotla yapılan çalışmalarda A biyotipinin T biyotipine göre penisiline karşı daha duyarlı olduğu bildirilmektedir (12,69,93,95). Ancak Japonya'da yapılan bir çalışmada A biyotipi 85 izolattan 63'ünün penisiline karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (95). **Baysal ve ark.(12)**, kuzu pnömonilerinden izole ettikleri ve A biyotipi olarak belirledikleri 29 *P. haemolytica* suşunun tamamının, 1 IU penisiline dirençli, 4 suşun ise 10 IU penisiline duyarlı olduğunu tespit ettiklerini rapor etmektedirler. Penisiline karşı oluşan bu dirençlilik, pnömoni olgularında bu grup antibiyotiklerin kontrolsüz olarak kullanılmasına dayandırılmakta ve biyotiplendirmede bu metodun kullanılmasının güvenli sonuçlar vermeyeceği savunulmaktadır (68,93). **Gündüz (69)**, sığırlardan izole ettiği toplam 48 *P. haemolytica* suşunun tamamının 1 IU Penisilin-G'ye dirençli bulunduğunu, bu nedenle penisiline duyarlılık metodu ile biyotiplendirmenin yanlış sonuçlar doğurabileceğini bildirmektedir.

Biyotiplendirme çalışmalarında yukarıdaki metotlara ek olarak metilen mavisi, brillant green ve bazik fuksin gibi boyalara duyarlılık A ve T biyotiplerinin ayrımında kullanılmakta, A biyotipinin T biyotipine göre daha duyarlı olduğu ileri sürülmektedir (95). **Craft ve ark.(40)**, lektin aglutinasyonu ile yaptıkları biyotiplendirme çalışmasında, A biyotiplerinin lektini aglutine etmediğini, T biyotiplerinin ise lektini aglutine ettiğini rapor etmektedirler.

Pasteurella 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 serotipi bulunmaktadır (17,55).

Pasteurella haemolytica antijenik özellikte protein, polisakkarit ve lipit komponentlerinin tümünü bünyesinde bulunduran Gram negatif bir bakteridir. Ayrıca kapsüller polisakkaritler, lipopolisakkaridler, outer membran proteinleri, nöyroaminidaz, glikoproteaz, leukotoksin, *P. haemolytica*'nın en önemli antijenik yapı ve virulens faktörleridir (2,27,48,98,120,121).

Pasteurella haemolytica'nın kapsüller polisakkaritleri serotipik spesifiteden sorumlu olup, genç kültürler daha iyi kapsül yapısı oluşturmaktadır (2,17). **Confer ve ark.(36)**, *P. haemolytica* kapsülünün antifagositik özelliğinden daha çok virulens artırıcı özelliğinin olduğunu savunmaktadırlar. Araştırmacılar bu konu ile ilgili yaptıkları çalışmada, kapsüllü *P.haemolytica* suşlarının aglutinasyona ve komplemente bağlı lizise karşı kapsülsüz suşlara nazaran daha dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar elde ettikleri bu sonuçla pnömonik pasteurellosise karşı direnç oluşumunda anti-kapsüler antikorların daha önemli olduğu kanaatine varmışlardır.

Lipopolisakkaridler (LPS) gram negatif bakterilerin önemli bir immunojenik yapısı olup lipit A ve polisakkarit olmak üzere iki temel yapıdan oluşurlar. Bakterinin toksik aktiviteye sahip bölümü lipit A, somatik antijenlerini belirleyen bölüm ise polisakkaritlerdir. Lipopolisakkaridler dış membrana hidrofobik olarak bağlı olduklarından saf olarak elde edilebilirler (50). **Slocombe ve ark.(119)**, *P. haemolytica* endotoksinini intravenöz ve intratracheal yoldan vermek suretiyle buzağılarda oluşturdukları deneysel endotoksemi sonucu, serumdaki endotoksin miktarında artış ve akciğerlerde

pulmoner ödeme bağılı akut yangı semptomlarının oluştuğunu bildirmektedirler. **Ali ve ark.(4)**, sığır ve koyunlara ait toplam 40 *P. haemolytica* suşunun LPS'lerini SDS-PAGE ve Western blotting metotlarıyla incelemişler, A ve T biyotiplerinden beşi düz, beşi pürüzlü olmak üzere 10 farklı LPS profili tespit ederek 1'den 10'a kadar sınıflandırmışlardır. Araştırmacılar bu LPS tiplerinden tip 1 ve tip 2'nin düzgün, tip 3 LPS'in pürüzlü olmasına karşın tip 1'e benzerlik gösterdiğini, LPS tip 6, 7, 9'un düz, tip 4, 5, 8 ve 10'un pürüzlü ancak aralarında herhangi bir benzerlik olmadığını bildirmektedirler. **Davies ve Donachie (44)**, koyun ve sığırlardan elde ettikleri 184 *P. haemolytica* izolatından Western blotting metoduyla 9 farklı LPS profili elde ederek, A biyotiplerine ait serotipleri LPS profillerine göre 4 grup altında toplamışlardır.

Pasteurella haemolytica toksik karakterde ekzotoksin (lökotoksin) üretir (3,27,29,30,31). Bu lökotoksin en fazla logaritmik fazda üretildiğinden bakterinin invazyon yeteneğini artırarak konakçı savunmasında olumsuzluklara neden olur (117). **Lee ve ark.(80)**, *P. haemolytica*'nın lökotoksin üretiminin aynı DNA sekansı üzerinde bulunan 4 bitişik gen tarafından kodlandığını bildirmektedirler. **Chang ve ark.(30)**, *P. haemolytica* lökotoksininin fizikokimyasal yoldan analiz çalışmaları neticesinde; lökotoksinin ısıya dayanıksız, oksijen ve pH'a dayanıklı, dializ olmayan, hemoliz özelliği bulunmayan, suda eriyebilir, antijenik karakterli bir glikoprotein olduğunu bildirmektedirler. *Pasteurella haemolytica* sitotoksini diğer sitotoksinler gibi etki gösterir, ancak ruminant lökositleri için spesifiktir (27,116). Lökotoksinin hedef hücre (lökosit) plazma membranına bağlandıktan sonra, oluşan porlardan K⁺ (Potasyum) iyonları dışarı çıkarken büyük moleküllü komponentlerin hücre içine girmesi ile hücre içi basınç artar ve hücre şişerek parçalanır. Bu parçalanma neticesinde laktatdehidrogenaz, β-glukozaminidaz ve laktoferrin gibi maddeler hücre dışına çıkarlar (31).

Outer membran (OM) proteinleri hücre içi ve dışına moleküllerin taşınmasının yanısıra konakçı hücrelere adhezyonda rol oynayan önemli yapılardır (120). *Pasteurella haemolytica* ve *P. multocida*'nın OM protein profillerinin incelendiği iki ayrı araştırmada *P. haemolytica*'nın A biyotipleri ile

T biyotiplerinin birbirinden farklı ancak serotipleri arasında benzer protein profil yapısı gösterdiği tespit edilmiştir (51,78). **Murray ve ark.(90)**, *P. haemolytica* biyotip A ile T'nin farklı demir düzenleyici proteinlere sahip olduklarını, bu nedenle bu iki biyotipin farklı olarak değerlendirilmesinin gerekli olduğunu bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar, *P. haemolytica*'nın her iki biyotipinden hazırlanacak aşının tüm serotiplere karşı koruyucu olabileceğini bildirmektedirler. **Lübke ve ark.(81)**, *P. multocida* OM proteini ile *P. haemolytica* OM proteini arasında % 81 oranında benzerlik bulunduğunu, *P. multocida*'dan hazırlanacak subünit bir aşının *P. haemolytica*'ya karşı da koruyucu olabileceğini kaydetmişlerdir. **Davies ve Donachie (44)**, *P. haemolytica* biyotip A'ya ait serotipleri OMP varyasyonlarına göre 3 gruba ayırarak incelenmesi gerektiğini bildirmektedirler. **Confer ve ark.(39)**, *P. haemolytica* serotip A₁'in OM proteinleri ile aşıladıkları buzağılarda oluşan antikor cevabı ile deneysel olarak hastalandırılma sonucunda oluşan duyarlılık ve dirençlilik arasında herhangi bir korelasyon bulamamışlardır. Bu bulgu neticesinde araştırmacılar hastalığa karşı bağışıklık gelişiminde OM proteinlerine karşı oluşan antikorların tek başlarına yeterli olmadığını, diğer yüzey antijenlerine karşı oluşan antikorların da bağışıklık gelişiminde etkili olduğu kanaatine varmışlardır.

Nöyroaminidazlar, infeksiyöz özellikteki virus ve bakterilerde bulunur ve özellikle infeksiyon etkenlerinin mukozal yüzeylerde canlılıklarını devam ettirmelerinde önemli rol oynarlar (2). **Otulakowski ve ark.(98)**, *P. haemolytica*'nın insan eritrositlerinde bulunan sialoglikoproteine karşı proteaz ürettiğini, bu proteaz ile konakçı spesifitesi ve virulens arasında potansiyel bir ilişki olabileceğini ileri sürmektedirler. **Lee ve ark.(80)**, yaptıkları deneysel çalışmalarda glikoproteaza karşı kan serumunda antikor bulunan hayvanlara ait akciğerlerde daha az pnömonik lezyon saptamışlardır.

Richard ve ark.(112), *P. haemolytica* A₁ suşlarının tamamının lizojenik olduğunu, ultraviyole ışınlarının etkisi ile bakteriyofajların vejetatif hale geçtiğini ve bakteriyi lize ettiklerini savunmaktadırlar.

Bazı araştırmacılar son yıllarda yaptıkları çalışmalar sonucunda *P. haemolytica*'yı *Mannheimia haemolytica* olarak adlandırıp, A₁₁'i diğer serotiplerden farklı olarak β -glukozidaz aktivitesi gösterdiği için *Mannheimia glucosida*, biyotip T'ye ait serotipler olan T₃, T₄, T₁₀ ve T₁₅'i *Pasteurella trehalosi* olarak adlandırarak yeniden sistematize ettiklerini ve kullandıklarını rapor etmektedirler (1,75,87).

Pasteurella haemolytica, pnömonik pasteurellosis olgularından en sık izole edilen bakteri türü olup, hastalığın oluşumunda anahtar rolü oynamaktadır (57). **Frank ve ark.**(60), sığır tonsillerinde bulunan *P. haemolytica* suşlarının nazofarinkste ürediğini ve bu nedenle de hastalığın oluşmasında tonsillerin rezervuar görevi gördüğünü ileri sürmektedirler.

Pasteurellosis'in patogenezi üzerine yapılan alışmalar, *P. haemolytica*'nın normal olarak bulunduğu üst solunum yolu florasından, alt solunum yollarına ve oradan da akciğerlere geçmesi ile hastalığı oluşturduğu düşüncesi üzerine yoğunlaşmıştır (58,60,68,107). Akciğerlerin kendini temizleme mekanizmasından dolayı üst solunum yolları ve akciğerler, mikroorganizmalar yönünden daima temizdir (70,109). Birçok araştırmacı üst solunum yolundaki viral bir infeksiyonun veya normal savunma mekanizmasını bozan stres faktörlerinin, nazofarinksteki *Pasteurella* türlerinin sayılarında ve virulanslarında artışa neden olduğu görüşünde birleşmektedir (59,70,118,127). **Grey ve Thomson** (66), *Pasteurella*'ların bozulan yetersiz savunma nedeniyle damlacık infeksiyonu şeklinde tracheal yol ile akciğerlere geçtiğini ve pnömonik pasteurellosis'e neden olduklarını tespit etmişlerdir. **Frank** (58), *P. haemolytica* serotip A₁'in nazofarinkste hızla üreyerek konakçının solunum havasıyla damlacık infeksiyonu tarzında çevreye yayılarak potansiyel bir bulaşma kaynağı oluşturduğunu bildirmektedir.

Solunum sisteminin önemli savunma hücreleri olan alveoler makrofajlar fagositozun yanı sıra, ortama salgıladıkları faktörlerle akciğerlerde yangı ve immün reaksiyonun hızlanmasına da neden olurlar (109). **Walker ve ark.**(124), yaptıkları deneysel bir çalışmada pnömonik pasteurellosis'in ilk 30 dakikasında akciğerlerde en fazla rastlanılan savunma

hücreleri olarak alveoler makrofajları, hastalığın 6. saatinde ise nötrofilleri tespit etmişlerdir.

Pasteurella haemolytica üst solunum yolu savunma mekanizmasını aşmış akciğerlere geldikten sonra, patojen hale dönüşerek endo ve ekzo toksinleri (lökotoksin) ile pnömonik lezyonların oluşmasına neden olur (111,119,126). *Pasteurella haemolytica*'nın endotoksini (lipopolisakkarid) endotelial hücrelerde oluşturduğu direkt veya indirekt toksik etki ile nötrofillerin yangısal bölgeye göçünü hızlandırmaktadır. Daha sonra nötrofillerden çıkan oksijen radikalleri endotel hücrelere zarar vererek pnömonik lezyonları oluşturmaktadır (41). **Slocombe ve ark.(119)**, solunum yolundan ve İ V (intra venöz) olarak endotoksin vererek yaptıkları deneysel bir çalışma sonucunda, her iki durumda da patojenik etkilerin oluştuğunu tespit etmişlerdir. Birçok araştırmacı, *P. haemolytica* tarafından salgılanan ekzotoksinin pnömonik pastörellozun başlangıç safhasında ortamda bulunan alveoler makrofajların ölümüne neden olması sonucu *P. haemolytica*'nın fagositozunu önlediğini bildirmektedirler (28,111). Pnömonik pasteurellosis'in ilerleyen safhalarındaki lökosit artışı, makrofaj ve nötrofillerin ölümüne yol açarak birçok oksijen radikali ve histamin açığa çıkarmaktadır. Açığa çıkan oksijen radikalleri ve histamin, pulmoner endotel hücrelere zarar vererek pnömonik lezyonların oluşmasına yol açmaktadır (3,10,126).

Pasteurella haemolytica, koyun ve kuzularda enzootik pnömoni ve sepsisemiye, sığır ve domuzlarda pnömonik pasteurellosis'e bu infeksiyonların dışında nadiren de olsa koyun ve sığırlarda mastitise neden olmaktadır (57,64,107). Koyun ve kuzu pnömonilerinde klinik olarak; iştahsızlık, durgunluk, yüksek ateş, öksürük ve solunum güçlüğünün yanı sıra burun ve gözlerden mukopurulent karakterde bir akıntı gözlenmektedir (8,15,107). Hasta hayvanların otopsisinde akciğerler kaburgalara yapışık, hiperemik ve ödemlidir. Seröz ve müköz membranlarda hemoraji, plöra ve periton boşluğunda eksudat birikmesinin yanı sıra infeksiyonun ileri safhalarında akciğerlerde yaygın bir hepatizasyon görülmektedir (8).

Pasteurella haemolytica ile aşıl原因 hayvanların serumları ve bronşiyal sıvılarındaki somatik (O) antijenlerine karşı oluşan antikorlar; ELISA

(Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), direkt ve indirekt bakteriyel aglutinasyon, IHA (indirekt hemaglutinasyon) ve komplement fikzasyon metotları ile tespit edilmektedir (52,96,117). Ayrıca kapsüler antijenlere karşı oluşan antikolar, IHA metodu ile, kültür süpernatantlarına (toksin) karşı oluşan antikolar ise; aglutinasyon metodu ile ölçülebilmektedir (117,123).

Radostits ve ark (107), pasteurellosis'in kontrolünde aşılama yöntemi dışında, bakım besleme ve antimikrobiyal ilaç kullanımının da önem taşıdığını, bu faktörlerden herhangi birinin eksikliğinde hastalıktan korunmanın olumsuz yönde etkileneceğini bildirmektedirler. **Frank (57)**, hasta hayvanların sağaltımına en kısa zamanda başlanılmasını ve hastalar sağlıklı olanlardan ayrıldıktan sonra antibiyotik tedavisine geçilmesini önermektedir. Ancak aynı araştırmacı başka bir araştırmasında tedavi esnasında *Pasteurella* türleri arasında antibiyotiklere dirençliliğin artan oranlarda yayıldığına da göz önünde bulundurulması gerektiğini bildirmektedir (58). **Rossmann ve ark.(114)**, *P. haemolytica* suşlarından bazılarının plazmid taşıdığını, **Murphy ve ark.(89)**, sahadan izole ettikleri *P. haemolytica* A₁ suşlarının %13.5'inin plazmid taşımadığını, %13.5'inin iki plazmid birden taşıdığını, % 73'ünün ise β -laktamazı kodlayan bir plazmid taşıdığını tespit ettiklerini bildirmektedirler. **Chang ve ark.(29)**, *P. haemolytica* A₁ suşunun tetrasiklin ve streptomisine karşı oluşturduğu dirençliliğin plazmidler tarafından aktarıldığını ortaya koymuşlardır. **Allan ve ark.(6)**, pnömonili sığır akciğerlerinden izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının linkomisin ve streptomisine karşı belirgin bir direnç oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar linkomisin ve streptomisine dirençli suşların izole edildiği hayvanlar ile, dirençsiz suşların izole edildiği hayvanlar arasında antibiyotik uygulaması açısından fark bulunmadığını, oluşan dirençliliğin ise plazmidler tarafından aktarılabileceğini bildirmektedirler. **Diker ve ark.(46)**, pnömonik koyun akciğerlerinden izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının tamamını kloramfenikol ve linkomisine dirençli, biyotip A suşlarını penisilin, ampisilin ve oksitetrasikline, biyotip T suşlarını ise eritromisin ve streptomisine karşı duyarlı bulmuşlardır. **Rossmann ve ark.(114)**, saha çalışmalarında izole ettikleri toplam 4 adet *P. haemolytica* suşunun

tamamının ampicillin ve penisiline, 3 suşun da streptomisin ve tetrasikline dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. **Erdağ ve ark.** (49), pnömonili sığır akciğerlerinden izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının çoğunun ampicilline karşı dirençli olduğunu saptamışlardır. **Baysal ve ark.** (12), pnömonili kuzu akciğerlerinden izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının penisilin dışındaki diğer antibiyotiklere karşı yaygın bir dirençlilik oluşturduğunu tespit etmişlerdir. **Diker ve ark.**(47), pnömonili koyun akciğerlerinden izole ettikleri toplam 268 *P. haemolytica* suşundan biyotip A olanların tümünü penisiline duyarlı bulurken, biyotip T suşlarının tamamını dirençli bulmuşlardır. **Gündüz** (69), pnömonili sığır akciğerlerinden izole ettiği toplam 48 adet *P. haemolytica* suşunun hepsini danofloksasin ve enrofloksasine, 44 suşu amoksiline, 35 suşu oksitetrasikline ve 34 suşu gentamisine karşı duyarlı bulurken, 36 suşun penisilin-G'ye, 34 suşun linkomisine ve 22 suşun da ampicilline karşı dirençli olduğunu bildirmektedir. **Kaya ve Kırkan** (74), pnömoni semptomlu ve sağlıklı koyunların nazal akıntılarında izole ettikleri toplam 50 adet *P. haemolytica* suşundan biyotip A olanların; penisilin, ampicillin, oksitetrasiklin ve eritromisine duyarlı, streptomisin, kanamisin ve gentamisine karşı dirençli, biyotip T olanların ise; eritromisin, kanamisin ve gentamisine duyarlı, penisilin, ampicillin, oksitetrasiklin ve streptomisine karşı dirençli olduklarını belirtmişlerdir.

Pnömonik pasteurellosis'e karşı aşı üretimine temel oluşturmak ve epidemiyolojik olarak yaygın serotipleri tespit etmek amacıyla, birçok ülkede olduğu gibi Türkiye'de de sığır, koyun ve keçilerden izole edilen *P. haemolytica* suşlarının biyotiplendirme ve serotiplendirme çalışmaları yapılmaktadır (53,56,68,69,74).

Bazı araştırmacılar 1960'lı yıllarda sığır solunum yolu infeksiyonlarından virus izolasyon çalışmaları yaparak hastalığın oluşmasında viral etkenlerin rolünü incelemişlerdir(83,108). **Yates** (127), yaptığı çalışmalar neticesinde pnömoninin tek bir tip mikroorganizma tarafından oluşturulmasından daha çok, miks bir infeksiyon özelliğinde olduğunu ortaya çıkarmıştır. **Collier** (32), akut pnömonili sığır ve koyunlardan yaygın olarak *Pasteurella* türlerini izole ettiğini, hastalığın çıkışında, klinik

bulgular ve akciğer lezyonlarının oluşumunda *Pasteurella* türlerinin önemli etkileri olduğunu savunmaktadır.

Koyun ve sığırların solunum yolu infeksiyonlarından birçok virus [(bovine herpes virus 1 (BHV-1), bovine viral diarrhea virus (BVD), infections bovine rhinotracheitis (IBR), para Influenza-3 (PI-3), respiratory syncytial virus (RSV)] ve bakteri (*Pasteurella* spp, *Corynebacterium* spp, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *E. coli*, *Acinetobacter* spp, *Mycoplasma* spp) izolasyonu yapılmakta ve bu etkenler sağlıklı koyun ve sığırların yaşadıkları ortamlar ile normal solunum yolu florasında bulunmaktadır (32,72,83,108). Sığır ve koyunların akut pnömoni olgularından bakteriyel etken olarak en çok *Pasteurella* türleri izole edilmektedir (15,17,45,68,69). Akut pnömonilerin devamı olarak kabul edilen kronik pnömoni olgularından ise *Pasteurella* türleri dışında; *Corynebacterium* spp, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, ve *E. coli* gibi bakteri türleri de izole edilebilmektedir (32,83). Pnömonik pasteurellosis, sığır ve koyunların solunum yolu infeksiyonlarında önemli bir yere sahiptir. İnfeksiyon *P. multocida* ve *P. haemolytica* ile ilişkili olup, bronkopnömoni, toksemi, eksudatif pnömoni ile karakterizedir (127).

Özkan ve ark.(100), Kars yöresi sığırlarında yaptıkları epidemiyolojik bir çalışmada, pnömoni vakalarının buzağılarda daha ölümcül seyrettiğini ve infeksiyonda etiyolojik ajan olarak *P. haemolytica*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma* spp izole ettiklerini, bakteriyel izolasyon yapılamayan olgularda ise viral etkenlerin rol oynayabileceğini bildirmektedirler. Erdağ ve ark.(49), Trakya ve Marmara bölgesinde pnömoni şüphesiyle ölen veya kesilen 80 adet buzağının 56'sından (%70) *P. haemolytica* izole etmişlerdir. Bu çalışmada *E.coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus* spp ve *Mycoplasma bovis* de tespit edilmiştir. Girgin ve ark.(65), Ankara bölgesinde tespit ettikleri pnömonik 32 buzağı vakasının 19'undan bakteriyel etken olarak *E.coli* (%37.8), *Pasteurella* spp (%18) ve *Corynebacterium* spp (%15) izole ettiklerini bildirmektedirler.

Al-Ghamdi ve ark.(5), *Pasteurella haemolytica* biyotip A'nın pnömonik pasteurellosis'in pato-fizyolojik bozukluklar ile klinik belirtilerinin oluşmasından sorumlu birincil bakteriyel ajan olduğunu kaydetmişlerdir.

Biberstein (15), kuzu pnömonilerinden izole edilen *P. haemolytica* suşlarının çoğunluğunun A biyotipine ait olduğunu bildirmektedir. **Fodor ve ark.**(55), sığır ve koyun pnömonik lezyonlarından izole ettikleri 486 *P. haemolytica* suşunun 476 tanesini biyotip A olarak belirlemişlerdir. **Güler ve ark.**(68), koyun ve keçilerden izole ettikleri toplam 119 *P. haemolytica* suşundan 110'nunu biyotip A, 9'unu biyotip T olarak ayırmışlardır. **Gündüz** (69), 340 sığır pnömonik akciğerlerinden izole ettiği 48 *P. haemolytica* suşunun tamamını biyotip A olarak ayırdıklarını bildirmektedir. **Fodor ve ark.**(53), koyunlardan izole ettikleri 186 *P. haemolytica* suşunun %92.5'inin biyotip A, %7.5'inin biyotip T, **Blanco-Viera ve ark.**(20), inceledikleri 40 *P. haemolytica* suşunun hepsinin biyotip A olduğunu bildirmektedirler. **Kaya ve Kırkan** (74), pnömonik koyun akciğerlerinden izole ettikleri 48 *P. haemolytica* suşunun 35 (%72.9)'ünü biyotip T, 13 (%27.1)'ünü biyotip A olarak tanımlamışlardır. **Kodjo ve ark.**(79), koyun ve sığırlardan izole ettikleri toplam 133 *P. haemolytica* suşundan 90'ını biyotip A, 43'ünü biyotip T olarak tespit etmişlerdir.

Pasteurella haemolytica'ya karşı direnç oluşmasındaki en önemli mekanizmalar; IgA (Immunglobulin A)'ya bağlı olarak mukozada üremenin inhibisyonu, serumda spesifik antikorlarla opsonizasyona bağlı lökosit fagositozu, komplemente bağlı *P. haemolytica*'nın öldürülmesi, serum ve bronkoalveoler sıvıda bulunan antikorlar tarafından bakteriye ait lökotoksinin nötralizasyonudur (36,41,62,94). **Schimmel ve ark.**(115), *P. haemolytica*'ya karşı ineklerin kolostrumlarında bulunan antikor titresini ile buzağılara ait kan serumu titreleri arasında pozitif bir korelasyonun bulunduğunu, ancak deneysel olarak infekte edilen buzağuların kan serumlarında bulunan antikor titresini ile hastalığın şiddeti arasında aynı korelasyonun bulunmadığını bildirmektedirler.

Pnömonik pasteurellosis'den korunmak amacıyla araştırmacılar çeşitli aşı çalışmaları yapmışlardır. Bu aşuların bir kısmı *P. haemolytica*'yı içerirken, bir kısmı *P. haemolytica* ile birlikte *P. multocida*'yı da içermektedir (22,103). *Pasteurella haemolytica* aşuları; canlı aşular, formolle öldürülerek uygun adjuvant ile hazırlanan ölü aşular, antijen ekstraktları ve kültür süpernatantları olarak kullanılmıştır (22,23,34-38,103,117). *Pasteurella haemolytica*'nın

bakterin aşılarının (ölü aşılarının) sığırları pnömonik pasteurellosis'den koruması tartışmalı olup, canlı aşıların diğerlerine göre daha koruyucu olduğu savunulmaktadır (22,23,35,36). **Confer ve ark.(35)**, Freund'un Incomplete (FIA), Complete (FCA) ve $Al(OH)_3$ adjuvantlarını kullanarak yaptıkları aşı çalışmalarında FIA ve FCA'yı daha koruyucu olduğunu savunmaktadırlar. **Cameron ve Bester (22)** ise, FIA ve FCA kadar $Al(OH)_3$ adjuvanın da yeterli immun cevap oluşturduğunu tespit ettiklerini bildirmektedirler.

Pasteurella haemolytica'nın ekstrakt antijenleri çeşitli metodlarla [tuzlu su, KSCN (Potasyum tiyosiyanat)] elde edilerek aşı olarak kullanılmış olup, araştırmacıların bir kısmı bu aşılama metodunun yeterli koruma sağladığını ileri sürerken (23,35), bir kısmı da bu tip antijenlerin yeterli antikor oluşumu sağlamadığı için bu maddeler ile hazırlanan aşıların koruyucu olmayacağını savunmaktadırlar (22,64,85,88). **Confer ve ark.(35)**, canlı aşılar ile yaptıkları aşılama çalışmalarında, lökotoksinleri nötralize edici antikorların oluştuğunu, bakteriyel aşılama neticesinde ise bu antikorların az ya da hiç oluşmadığını tespit etmişlerdir. Bu nedenle hastalığa karşı direnç gelişiminde hiçbir antijenin tek başına yeterli olamayacağı kanaatine varmışlardır. **Mosier ve ark.(88)**, *P. haemolytica* serotip A₁'in kapsüler karbonhidrat ve protein ekstraktları ile lökotoksinini antijen olarak kullanarak yaptıkları aşı çalışmaları neticesinde, sığırlarda bu antijenlere karşı oluşan antikor yanıtı ile direnç arasında bir korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir.

Confer ve ark.(36), saha şartlarındaki aşı denemelerinde çok sayıda sığırın aynı yetiştirilme şartlarında kullanılmasının avantaj olduğunu, ancak diğer patojenik etkenler, hayvanların kondisyonları ve farklı orjinlerden teminleri gibi birçok faktörün aşılamanın ölçülmesini olumsuz yönde etkilediğini belirtmişlerdir. **Radostitis ve ark.(107)**, pnömonik pasteurellosis'den korunmak için buzağılarda aşılamanın sütten kesilme ve yolculuk streslerinden en az 15 gün önce yapılmasının uygun zaman olduğu görüşündedirler.

Pasteurella haemolytica suşlarından hazırlanan aşıların koruyuculuğunun ölçülmesi ile ilgili birkaç metod geliştirilmiştir. Bu metodlardan ilki, solunum yolu infeksiyonlarının kompleks etiyolojisi göz

önünde bulundurularak solunum yolu ile bir virus infeksiyonuna *BHV-1* (bovine herpes virus-1) veya *PI-3* (para influenza-3)'e maruz bırakıldıktan sonra, *P. haemolytica* aşısı uygulanan hayvanlara *P. haemolytica*'nın aerosol, intrabronchial veya intratracheal yolla verilmesidir. Bir diğer metot da aşılama hayvanlara bir virus infeksiyonu oluşturulmadan, direkt olarak *P. haemolytica*'nın aerosol, intrabronchial veya intratracheal yolla verilmesidir. Bu iki değişik metotla deneysel olarak aşıları hayvanlarda infeksiyonun oluşup oluşmadığı tetkik edilmektedir (23,36). **McVey ve ark.**(86), aşıları hayvanlara *P. haemolytica*'nın direkt olarak göğsün yan duvarından akciğere verilmesi sonucu deneysel olarak infeksiyon oluşturulabileceğini ileri sürmektedirler. **Frank** (58), sığırları solunum sistemi infeksiyonundan korumak amacıyla bilinen virüslere karşı aşılama yerine, hastalığın ölümcül seyretmesine neden olan *Pasteurella* türlerine karşı aşılama yapılmasının daha yararlı olacağını bildirmektedir.

Ülkemizde sığır ve koyun pnömonilerinden etken izolasyonu identifikasyonu, antibiyotik duyarlılıkları, biyotip ve serotiplendirilmesi üzerine sınırlı sayıda çalışmalar yapılmıştır (53,56,68,69,74). Bu araştırma ile; Kars yöresindeki sığır ve koyunlara ait pnömonili akciğerlerden *P. haemolytica*'nın izolasyonu, identifikasyonu, biyotiplendirilmesi ve antibiyotiklere olan duyarlılıkları belirlenerek, ileri zamanlarda yapılacak epidemiyolojik çalışmalara temel oluşturmak amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Örnekler

Kars Belediye Mezbahanesi ile Özel Et ve Tavuk Kombinasında kesilen 1 yaş üzeri toplam 838 adet sığır ve Kars Belediye Mezbahanesinde kesime sevk edilen 1 yaş üzeri 241 adet koyun akciğeri, pnömoni açısından makroskopik olarak incelendi. Makroskopik inceleme sonucu pnömoni tespit edilen 125'i sığır, 106'sı koyun olmak üzere toplam 231 adet akciğer, *Pasteurella haemolytica* izolasyonu amacıyla araştırmanın materyalini oluşturdu (Tablo 2).

Tablo. 2. Araştırma materyalinin kaynaklara göre dağılımı.

Materyal kaynağı	SIĞIR			KOYUN		
	Kesilen Hayvan Sayısı	Fibrinli Pnömonik Akciğer Sayısı	%	Kesilen Hayvan Sayısı	Fibrinli Pnömonik Akciğer Sayısı	%
K.B.M	627	101	16.1	241	106	44.0
Ö.E.T.K	211	24	11.4	-	-	-
TOPLAM	838	125	14.9	241	106	44.0

K.B.M: Kars Belediye Mezbahanesi
 Ö.E.T.K: Özel Et ve Tavuk Kombinası

2.1.2. Standart *P. haemolytica* suşu

Pasteurella haemolytica standart suşu; Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edildi.

2.1.3. Antibiyotik diskleri

Sığır ve koyun pnömonik akciğerlerinden izole edilen *P. haemolytica* suşlarının antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını ve dirençliliklerini tespit etmek amacıyla; ampicillin (10µg), gentamisin (10µg), amoksisillin -klavulanik asit (30µg), oksitetrasiklin (30µg), sülfametaksazol trimetoprim (25µg), eritromisin (15µg), Sefuroksim sodyum (30µg), streptomisin (10µg), tetrasiklin (10µg), penisilin G (10 IU), kanamisin (30µg) Oxoid, enrofloksasin (5µg) ve danofloksasin (5µg) diskleri Difco firmalarından temin edildi.

2.1.4. Besiyerleri

2.1.4.1. İzolasyon besiyerleri

2.1.4.1.1. Blood agar base (Oxoid No:2)

Blood agar base	40 g
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı 7.2-7.4'e ayarlanıp, 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra, 50 ° C'ye kadar soğutulup, içerisine % 7 oranında steril defibrine koyun kanı ilave edildikten sonra 12 cm çapındaki petri kutularına 15 ml dökülüp, kullanılıncaya kadar buzdolabında +4 ° C'de saklandı (91).

2.1.4.2. İdentifikasyon besiyerleri

2.1.4.2.1. Mac Conkey agar (Oxoid CM 7b)

Mac Conkey agar	50 g
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı: 7.2'e ayarlanıp 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra 12 cm çapındaki petri kutularına döküldü ve kullanılıncaya kadar buzdolabında + 4 °C'de saklandı(15).

2.1.4.2.2. Bromcreosol purple broth

Peptone	10 g
Beef extract	4 g
Sodium chloride	5 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra içerisine % 95'lik etil alkolde önceden hazırlanan %1.6'lık bromcreosol purple solüsyonundan %1 oranında ilave edildi (15).

2.1.4.2.3. Brain Heart Infusion Broth – BHIB (Oxoid)

Brain Heart Infusion Broth	37 g
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı 7.4-7.6'a ayarlandıktan ve tüplere 5'er ml dağıtıldıktan sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Besiyeri *Pasteurella haemolytica* suşlarının üretilmesi ve saklanması amacıyla kullanıldı (15).

2.1.4.2.4. İndol test ortamı

Peptone	4 g
Sodium chloride	2 g
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı 7.4-7.6'ya ayarlandıktan ve tüplere 5'er ml dağıtıldıktan sonra, 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildi (19).

2.1.4.3. Antibiyotik duyarlılık testinde kullanılan besiyerleri

2.1.4.3.1. Trypton Soy Broth-TSB (Oxoid)

Trypton Soy Broth	30 g
Distile su	1000 ml

Karışımın pH'sı 7.3-7.5'e ayarlandıktan ve tüplere 1'er ml dağıtıldıktan sonra, 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Besiyeri antibiyotik duyarlılıkları tespit edilecek saha izolatlarının homojenize edilmesi amacıyla kullanıldı (6).

2.1.4.3.2. Mueller-Hinton agar (Oxoid)

Mueller-Hinton agar	38 g
Distile su	1000 ml

Karışım 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra, 55 °C' ye kadar soğutularak içerisine %5 oranında defibrine koyun kanı ilave edildi (6).

2.1.5. Ayıraçlar

2.1.5.1. İndol ayıracı (20)

p-dimethylaminobenzaldehyde	10 g
Isoamyl alcohol	150 ml
HCl (konsantre)	50 ml

2.1.6. Solüsyonlar

2.1.6.1. Karbonhidrat solüsyonları

Biyotip identifikasyonu amacıyla L-arabinoz, trehaloz, D-ksiloz ve salisin'in % 10'luk eriyikleri hazırlanarak, su banyosunda 3 gün süreyle 60°C'de 1 saat tutularak tinalizasyon yöntemi ile sterilizasyonları sağlandı (15).

2.2. Metot

2.2.1. Mikrobiyolojik muayene

2.2.1.1. Örneklerin mikroskopik bakışı ve *Pasteurella* izolasyonu

Sığır ve koyunlara ait pnömonik akciğerlerden yaklaşık 15-20 g alınarak porselen havanda bir makas yardımı ile parçalandıktan sonra 5 ml steril nutrient broth içerisine steril kum eklenilerek 3-5 dakika homojenize edildi. Her materyal için tek tek yapılan bu işlem sonucunda elde edilen akciğer homojenatından sürme preparatlar hazırlandı. Hazırlanan preparatlar Giemsa ve Gram boyama yöntemleri ile boyandıktan sonra mikroskopta immersiyon objektifinde incelendi. Gram negatif ve bipolar boyanan basil veya kokobasiller *Pasteurella* spp şüpheli olarak kabul edildi. Daha sonra pnömonili akciğer örneklerinden hazırlanan homojenatlardan % 7 koyun kanlı agarlara ekimler yapılarak, 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin bitiminde kanlı agarda üreyen 1-2 mm çapında beyaz S tipi ve hemolitik kolonilerden preparatlar hazırlanıp Gram boyama yöntemi ile boyandı ve mikroskopta incelendi. İzolasyon işlemlerinin sonunda *Pasteurella* spp. şüpheli kolonilerden alınarak identifikasyon amacıyla BHIB (Brain Heart Infusion Broth)'a geçildi ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi (15,18,91).

2.2.1.2. *Pasteurella* suşlarının identifikasyonu

İnkübasyon sonunda BHIB'da üreyen *Pasteurella* spp. şüpheli mikroorganizmalardan tekrar % 7 koyun kanlı agarlara ekimler yapılarak 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi (91). İnkübasyon neticesinde üreyen bakteriler Tablo. 3'de belirtilen oksidaz, katalaz, indol oluşumu, kanlı agarda hemoliz ve Mac Conkey agarda üreme durumlarına göre identifiye edildi (24).

2.2.1.2.1. Gram boyama ve hemoliz özelliğinin belirlenmesi

Pasteurella spp. şüpheli bakterilerin saf kültürlerini elde etmek amacıyla %5 koyun kanlı agara ekimler yapılarak 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi ve üreyen kolonilerin hemoliz özellikleri incelendi. Daha sonra *Pasteurella* spp şüpheli kolonilerin kanlı agardaki saf kültürlerinden preparatlar hazırlanarak Gram boyama yöntemi ile boyandı (24).

2.2.1.2.2. Oksidaz testi

Gram negatif olan hemolitik kolonilerin oksidaz aktiviteleri test edildi. Kanlı agarda 18-24 saatlik inkübasyon sonucu üreyen *Pasteurella* spp. şüpheli bakterinin saf kültüründen platin öze yardımı ile birkaç koloni alınarak oksidaz çubuğuna (Oxoid BR64A) sürüldü. Sürüntünün 30-40 sn sonra yapılan incelemesi sonucu oksidaz çubuğunun indikatör kısmının kırmızı-mor renk alması pozitif, renk değişikliğinin olmaması negatif olarak değerlendirildi (19).

2.2.1.2.3. Katalaz testi

Temiz bir lam üzerine önceden hazırlanan % 3'lük H₂O₂ (hidrojen peroksit) solüsyonundan bir öze dolusu konuldu. Daha sonra koyun kanlı agarda üreyen *Pasteurella* spp. şüpheli bakterinin saf kültüründen öze ile alınarak %3'lük H₂O₂ solüsyonu içerisinde homojenize edildi. Homojenizasyonu takiben hava kabarcıklarının oluşması pozitif, oluşmaması negatif olarak değerlendirildi (7,15,18).

2.2.1.2.4. İndol testi

İndol test ortamına şüpheli bakterinin saf kültüründen ekilip 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, indol ayırıcından 3-5 damla besiyerinin (tüpün) yan tarafından akıtılıp, üst yüzeyde tabaka oluşturulması sağlandı. Besiyeri ile ayıraç arasında kırmızı renk oluşumu pozitif, renk değişikliğinin oluşmaması ise negatif olarak değerlendirildi (19).

2.2.1.2.5. Mac Conkey agarda üreme

Pasteurella şüpheli bakterilerin koyun kanlı agardaki saf kültürlerinden birkaç koloni alınarak BHIB'a geçildi ve sıvı kültür 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda BHIB'da üreyen *Pasteurella spp.* şüpheli bakteri kültüründen 1-2 öze dolusu alınarak Mac Conkey agara ekimi yapıldı ve besiyeri 37 °C'de 48-72 saat inkübe edildi. Bu sürenin sonunda Mac Conkey agarda üreyen *Pasteurella spp.* şüpheli bakteri kolonilerinin, diğer *Pasteurella* türleri ile karşılaştırılarak identifikasyonları yapıldı (15,125).

Tablo.3. *Pasteurella* türlerinin identifikasyon kriterleri (24).

Bakteri Türleri	Gram Boyama	Hemoliz	İndol	Katalaz	Oksidaz	MacConkey Agarda Üreme
<i>P.haemolytica</i>	-	+	-	+	+	+
<i>P. multocida</i>	-	-	+	+	+	-
<i>P.pneumotropica</i>	-	-	-	+	+	-
<i>P. aerogenes</i>	-	-	-	+	+	+
<i>P. dagmatis</i>	-	-	+	+	+	-
<i>P. caballi</i>	-	-	-	+	+	-
<i>P. gallinarum</i>	-	-	-	+	+	-

+: Pozitif
-: Negatif

2.2.2. *Pasteurella haemolytica* suşlarının biyotiplendirilmesi

2.2.2.1. Koloni formasyonuna göre biyotiplendirme

Pasteurella haemolytica olarak identifiye edilen tüm suşlar, koyun kanlı agarda 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda suşların oluşturdukları koloniler renk, büyüklük, düzgünlük ve koloni merkezlerinin rengi yönünden ayrı ayrı incelendi (15).

2.2.2.2. Karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirme

Bu amaçla tinalizasyon metodu ile steril edilen L-arabinoz, D-ksiloz, trehaloz ve salisin karbonhidratlarının % 10'luk solüsyonlarından Bromcreosol Purple Broth'a son konsantrasyonu % 1 olacak şekilde ilave edilerek, 4 farklı fermentasyon besiyeri hazırlandı. Karbonhidrat besiyerlerinden steril ve kapaklı deney tüplerine 5'er ml dağıtıldı. Biyotiplendirilecek *P. haemolytica* suşlarından TSB'ye ekimler yapıldı ve besiyerleri 37 °C'de 2 saat inkübe edildi. Daha sonra her suşun TSB'deki kültüründen steril pipetler yardımı ile 0,1 ml alınarak 4 ayrı şeker (her şekerden 1'er tane kontrol olarak ayrıldıktan sonra) ekimleri yapıldı ve kontrol grubu ile birlikte 37 °C'de 14 gün süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda besiyerlerindeki renk değişikliğine bağlı olarak; L-arabinoz ve D-ksilozu fermente eden suşlar biyotip A, trehaloz ve salisini fermente eden suşlar ise biyotip T olarak biyotiplendirildi (15).

2.2.3. *Pasteurella haemolytica* suşlarının antibiyotiklere olan duyarlılıklarının tespiti

Pasteurella haemolytica olarak identifiye edilen suşların % 7 koyun kanlı agardaki 24 saatlik kültürlerinden 3-5 koloni alınarak 1ml TSB besiyerine geçildikten sonra kültür 2 saat inkübe edildi. İnkübe edilen buyyon kültüründen, içerisinde % 5 defibrine koyun kanı bulunan Müller-Hinton agar (Oxoid) besiyerine 0,1 ml dökülerek steril bir cam bagette yayılıp etüvde 37 °C'de 20 dakika kurumaya bırakıldı. Kuruyan 12 cm çapındaki petri yüzeyine ampicillin (10µg), sülfametaksazol-trimethoprim (25µg), amoksisillin-klavulanik asit (30µg), enrofloksasin (5µg), gentamisin (10µg), eritromisin (15µg), sefuroksim sodyum (30µg), danofloksasin (5µg), streptomisin (10µg), tetrasiklin (10µg), penisilin G(10 IU), kanamisin (30µg) ve oksitetrasiklin (30µg) antibiyotik diskleri steril bir pens yardımı ile eşit aralıklarla yerleştirildikten sonra 37 °C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları milimetrik olarak ölçüldü ve standart değerleri ile karşılaştırıldı (18).

3.BULGULAR

3.1. Mikrobiyolojik muayeneler

Kars Belediye Mezbahanesinden temin edilen toplam 101 adet sığır pnömonik akciğer örneğinin 56 (%55.4)'sından, Özel Et ve Tavuk Kombinasından temin edilen 24 adet pnömonik akciğerin 15 (%62.5)'inden olmak üzere toplam 71(%56.8) akciğer örneğinden bakteriyel etken izole edilirken, 54 (%43.2) akciğer örneğinden etken izolasyonu yapılamadı. Çalışmada Kars Belediye Mezbahanesinden temin edilen ve bakteriyel etken izolasyonu yapılan 56 adet örnekten 26 (%46.4), Özel Et ve Tavuk Kombinasından alınan ve bakteriyel etken izolasyonu yapılan 15 örnekten 6 (%40) adet olmak üzere, 71 adet sığır pnömonik akciğer örneğinden toplam 32 (%45) adet *P. haemolytica* izole ve identifiye edildi (Tablo.4).

Kars Belediye Mezbahanesinde kesilen 1 yaş ve üzeri koyunlara ait toplam 106 adet pnömonik akciğer örneğinin 92 (%86.8)'sinden bakteriyel etken izolasyonu yapılırken, 14 (%13.2)'ünden etken izolasyonu yapılamadı. Bakteriyel etken izolasyonu yapılan 92 adet koyun pnömonik akciğer örneğinden toplam 29 (%27.3) adet *P. haemolytica* izole ve identifiye edildi (Tablo.4).

Tablo.4. Pnömonik sığır ve koyun akciğerlerinden etken izolasyonu ve *P.haemolytica* identifikasyonunun kaynaklara göre dağılımı.

Hayvan Türü	Materyal Kaynağı	Pnömonik Ö.S.	Etken izole edilen Ö.S. %	Etken izole edilemeyen Ö.S. %	İdentifiye edilen <i>P.haemolytica</i> sayısı %
Sığır	K.B.M.	101	56 (55.4)	45 (44.5)	26 (25.7)
Sığır	Ö.E.T.K.	24	15 (62.5)	9 (37.5)	6 (25.0)
Sığır	TOPLAM	125	71 (56.8)	54 (43.2)	32 (25.6)
Koyun	K.B.M.	106	92 (86.8)	14 (13.2)	29 (27.3)
Koyun	TOPLAM	106	92 (86.8)	13 (13.2)	29 (27.3)

Ö.S: Örnek sayısı

K.B.M: Kars Belediye Mezbahanesi

Ö.E.T.K: Özel Et ve Tavuk Kombinası

Sığırlara ait toplam 32 *P. haemolytica* suşunun 8'i saf, 24'ü diğer bakteri türleri ile birlikte, 29 koyun suşunun 4'ü saf, 25'i diğer mikroorganizmalar ile birlikte izole edildi.

3.2. *Pasteurella haemolytica* türlerinin biyokimyasal özellikleri

Pnömonik sığır ve koyun akciğerlerinden izole edilen toplam 61 adet *P. haemolytica* suşunun tamamı koyun kanlı agarda hemoliz oluşturdu. Bütün suşların katalaz ve oksidaz test sonuçlarının pozitif, indol reaksiyonlarının negatif olduğu ve Mac Conkey agarda 48-72 saatlik inkübasyon sonucu S tipi koloni tarzında üreme gösterdiği belirlendi.

Tablo.5. Sığır ve koyunlara ait pnömonili akciğerlerden identifiye edilen *P. haemolytica* suşlarının biyokimyasal özellikleri.

Biyokimyasal Özellikler	SIĞIR n: 32				KOYUN n: 29			
	Pozitif	(%)	Negatif	(%)	Pozitif	(%)	Negatif	(%)
Hemoliz	32	(100)	0	(0)	29	(100)	0	(0)
İndol	0	(0)	32	(100)	0	(0)	29	(100)
Oksidaz	32	(100)	0	(0)	29	(100)	0	(0)
Katalaz	32	(100)	0	(0)	29	(100)	0	(0)
Mac Conkey agarda üreme	32	(100)	0	(0)	29	(100)	0	(0)

n: suş sayısı

3.3. *Pasteurella haemolytica* suşlarının biyotiplendirilmesi

3.3.1. Koloni formasyonuna göre biyotiplendirme

Sığırların pnömonili akciğerlerinden izole edilen 32 suşun tamamının %7 koyun kanlı agarda, A biyotipine özgü 2 mm çapında, düzgün kenarlı, açık gri renkli koloniler oluşturduğu gözlemlendi.

Koyunların pnömonik akciğerlerinden izole edilen 29 *P. haemolytica* suşunun 18'i koyun kanlı agarda T biyotipine özgün, yaklaşık 2-3 mm çapında, kenarları düzgün, ortaları koyu renkli, S tipi gri koloniler oluştururken, 11'i A biyotipine özgü, 2 mm çapında, kenarları düzgün, açık gri renkli koloniler oluşturdu.

3.3.2. Karbonhidrat fermentasyonlarına göre biyotiplendirme

Sığır pnömonik akciğerlerinden izole edilen 32 *P. haemolytica* suşunun 23'ü (%71.8) arabinozu, 26'sı (%81.8) ksilozu, 6'sı (%18.7) salisini fermente ederken, hiçbirisi trehalozu fermente etmedi (Tablo.6). Ksiloz ve arabinoz sonuçlarına dayanılarak tüm sığır suşlarının A biyotipi olduğu belirlendi.

Tablo.6. Sığırlara ait pnömonili akciğerlerinden tanımlanmış *P. haemolytica* suşlarının karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirilmesi.

Karbonhidratlar	Pozitif n	%	Negatif n	%
Arabinoz	23	71.8	9	28.2
Ksiloz	26	81.8	6	18.2
Salisin	6	18.7	26	81.3
Trehaloz	0	0	32	100

n: 32

Pnömonik koyun akciğerlerinden izole edilen 29 *P. haemolytica* suşunun 10'u (%34.4) arabinozu, 8'i (%27.5) ksilozu, 7'si (%24.1) salisini, 18'i (%62.2) trehalozu fermente ettiği tespit edildi (Tablo. 7). Arabinoz ve ksiloz fermentasyon sonuçlarına göre suşlardan 11'inin (%37.9) biyotip A, trehaloz ve salisin fermentasyon sonuçlarına göre suşlardan 18'inin (%62.1) biyotip T olduğu belirlendi (Tablo.7).

Tablo.7. Koyunlara ait pnömonili akciğerlerden identifiye edilen *P. haemolytica* suşlarının karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirilmesi.

Karbonhidratlar	Pozitif n	%	Negatif n	%
Arabinoz	10	34.4	19	65.6
Ksiloz	8	27.5	21	72.5
Salisin	7	24.1	22	75.9
Trehaloz	18	62.2	11	37.8

n: 29

3.4. Antibiyotiklere duyarlılık testi

Sığırların pnömonik akciğerlerinden izole edilen 32 adet *P. haemolytica* suşunun antibiyogram testinde; tüm suşlar sülfametaksol trimethoprim, danofloksasin, enrofloksasin, gentamisin ve sefuroksim sodyum'a duyarlı bulunurken, 2 suşun ampisillin'e, 3 suşun amoksisillin-klavulanik asit'e, 20 suşun eritromisin'e, 7 suşun streptomisin'e, 28 suşun tetrasiklin'e, 26 suşun penisilin G'ye, 27 suşun kanamisin'e, 8 suşun da oksitetrasiklin'e duyarlı olduğu tespit edildi. Aynı antibiyogramda 30 suşun ampisillin'e, 29 suşun amoksisillin-klavulanik asit'e, 25 suşun streptomisin'e, 24 suşun oksitetrasiklin'e, 4 suşun tetrasiklin'e, 6 suşun penisilin G'ye, 5 suşun kanamisin'e ve 12 suşun da eritromisin'e dirençli olduğu tespit edildi (Tablo.8).

Koyunların fibrinli pnömonik akciğerlerinden identifiye edilen toplam 29 suşa yapılan antibiyogram testinde; 29 suşun tamamının sülfametaksol trimetoprim, danofloksasin, enrofloksasin ve sefuroksim sodyum'a duyarlı olduğu, ayrıca 6 suşun amoksisillin-klavulanik asit'e, 28 suşun gentamisin'e, 24 suşun eritromisin'e, 27 suşun streptomisin'e, 27 suşun tetrasiklin'e, 28 suşun penisilin G'ye, 26 suşun kanamisin'e ve 5 suşunda oksitetrasiklin'e duyarlı olduğu tespit edildi. Aynı testte 29 suşun tamamının ampisillin'e, 23 suşun amoksisillin-klavulanik asit'e, 1 suşun gentamisin'e, 5 suşun eritromisin'e, 2 suşun streptomisin'e, 2 suşun tetrasiklin'e, 1 suşun penisilin G'ye, 3 suşun kanamisin'e ve 24 suşunda oksitetrasiklin'e direnç gösterdiği saptandı (Tablo.8).

Tablo.8. Siğir ve koyunlardan identifiye edilen *P. haemolytica* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları.

Kullanılan Antibiyotik Diskleri	SIĞIR n:32				KOYUN n:29			
	Duyarlı n	%	Dirençli n	%	Duyarlı n	%	Dirençli n	%
Ampisillin (10µg)	2	6.4	30	93.6	0	0	29	100
Sülfametaksol trimetoprim (25µg)	32	100	0	0	29	100	0	0
Amoksisillin-klavulanik asit (30µg)	3	9.0	29	91.0	6	17.6	23	82.4
Danofloksasin (5µg)	32	100	0	0	29	100	0	0
Enrofloksasin (5µg)	32	100	0	0	29	100	0	0
Gentamisin (10µg)	32	100	0	0	28	96.5	1	3.5
Eritromisin (15µg)	20	62.5	12	37.5	24	83.0	5	17.0
Sefuroksim sodyum (30µg)	32	100	0	0	29	100	0	0
Streptomisin (10µg)	7	22.0	25	78.0	27	93.3	2	6.7
Tetrasiklin (10µg)	28	87.5	4	12.5	27	93.3	2	6.7
Penisilin G (10 IU)	26	81.8	6	18.2	28	96.5	1	3.5
Kanamisin (30µg)	27	84.3	5	15.7	26	89.5	3	10.5
Oksitetrasiklin (30µg)	8	12.5	24	87.5	5	17.0	24	83.0

n : suş sayısı

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Sığır ve koyun yetiştiriciliği yönünden oldukça ileri seviyede olan Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde solunum yolu infeksiyonlarına bağlı verim kayıplarının ekonomik değerinin yüksek düzeyde olduğu belirtilmektedir (33,57,127). Türkiye'de ise koyun ve sığır solunum sistemi infeksiyonları, tespiti mümkün olmayan oranda verim düşüklüğüne bağlı ekonomik kayıplara yol açmaktadır (11,45,69,74). Sığır ve koyun pnömonilerinin ortaya çıkışında hayvan nakilleri, ani iklim değişiklikleri, açlık, aşılama, gıda değişiklikleri ve stres gibi faktörlerin yanısıra, bakteriyel ve viral ajanların da rol oynadığı vurgulanmaktadır (32,57,58,83,108,127).

Çeşitli araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda koyun pnömonilerinin etiyolojisinde birçok bakteriyel ve viral ajanın rol oynadığını, ancak ölümlere sebep olan patolojik lezyonların oluşmasında primer etken olarak *P. haemolytica*'yı sorumlu tutmaktadırlar (43,68,73-76,86,99).

Sığır pnömonilerinin etiyolojisinde *IBR*, *BVD*, *PI-3* gibi viral etkenlerin yanısıra *P. haemolytica*, *P. multocida*, *Mycoplasma spp*, *Corynebacterium spp*, *Klebsiella spp*, *Staphylococcus spp* ve *Streptococcus spp* gibi bakteriyel etkenlerin de rol oynadığı bildirilmektedir (32,69,72,83,122). Bazı araştırmacılar bakteriyel ve viral kökenli pnömonilerin daha şiddetli seyretmesinde stres faktörlerinin etkili olduğunu ileri sürmektedirler (104,108).

Koyun ve sığır pnömonik pasteurellosis'i patolojik olarak fibrinöz karakterde olup, 0-6 aylık kuzularda, süttten yeni kesilmiş buzağılar ile bir yaş altı danalarda ölümlere yol açmaktadır (1,43,58,76,86,99,127).

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de koyun ve sığır pnömonilerinden *P. haemolytica* izolasyonları yapılmaktadır (8,11,20,68,72).

Houghton ve Gourlay (72), pnömonik buzağı akciğerlerinin %27'sinden bakteriyel etken izole ettiklerini ve bunların %30'unun *P. haemolytica* olduğunu vurgulamaktadırlar. **Allan ve ark.** (6), pnömonik buzağı akciğerlerinden %73 oranında, **Erdağ ve ark.** (49), %75 oranında *P.*

haemolytica izole ettiklerini bildirmektedirler. **Blanco-Viera ve ark. (20)**, 224 sığır pnömonik akciğerinden 40 adet, **Gündüz (69)**, 325 pnömonik sığır akciğerinden 42 adet *P. haemolytica* izole ettiklerini rapor etmektedirler. **Şahin (122)**, Kars yöresi sığırlarına ait 109 pnömonik akciğerin 43 (%39.44)'ünden izole ettiği bakteriyel etkenlerin 11 (%20,75)'inin *P. haemolytica* olduğunu bildirmektedir.

Bakke (8), Güney Norveç'te 126 pnömonik koyun akciğerinden 47(%37.3) adet, **Hazıroğlu ve ark. (70)**, 500 kuzu pnömonik akciğerinden 258 (%51.6) adet, **Otlu (97)**, Kars yöresi koyunlarına ait 247 pnömonik akciğerden 56(%22.7) adet *P. haemolytica* suşu izole ettiklerini bildirmektedirler. **Baysal ve Güler (11)**, pnömonik kuzu ve oğlak akciğerlerinden %21.62, **Güler (67)**, pnömonik koyun ve keçi akciğerlerinden %29,7 oranında *P. haemolytica* suşu izole ettiklerini bildirmektedirler.

Bu araştırmada Kars Belediye Mezbahanesi'nden alınan 101 adet sığır pnömonik akciğerinin 56 (%55.4)'sından 26 (% 25.7) adet, Özel Et ve Tavuk Kombinasından elde edilen 24 pnömonik sığır akciğerinin 15 (%62,5)'inden 6 (% 25.0) adet olmak üzere toplam 32 (% 25.6) adet *P. haemolytica* suşu izole edildi (Tablo.4). Aynı araştırmada Kars Belediye Mezbahanesi'nden temin edilen 106 pnömonik koyun akciğerinin 92 (%86.8)'sinden 29 (%27.3) adet *P. haemolytica* suşu izole edildi.

Bu araştırmadaki sığır pnömonik akciğerlerinden *P. haemolytica* izolasyon oranı; **Erdağ ve ark. (49)** ile **Allan ve ark. (6)**'nin oranlarından düşük, **Şahin (122)** ve **Blanco-Viera (20)**'nin izolasyon oranlarına yakın, **Gündüz (69)**'ün izolasyon oranlarından ise yüksek bulunmuştur. Koyun pnömonik akciğerlerinden *P. haemolytica* izolasyon oranı ise; **Hazıroğlu ve ark. (70)** ile **Bakke (8)**'nin oranlarından düşük, **Güler (67)**, **Otlu (97)** ile **Baysal ve Güler (11)**'in oranlarına yakın bulunmuştur. İzolasyon oranlarındaki farklılıkların, barınma şartları, iklim değişiklikleri, hayvan nakilleri, yaş ve ırk farklılıklarının yanısıra diğer stres faktörlerinin etkisinden kaynaklanabileceği kanısına varıldı.

Gündüz (69), sığır pnömonik akciğerlerinden izole ettiği 48 adet *P. haemolytica* suşunun tamamının koyun kanlı agarda hemoliz oluşturduğunu, Mac Conkey agarda ürediğini, indol reaksiyonlarının negatif, oksidaz aktivitelerinin ise pozitif olduğunu bildirmektedir. **Kaya ve Kırkan (76)**, koyun pnömonik akciğerlerinden izole ettikleri toplam 48 *P. haemolytica* suşunun tamamının koyun kanlı agarda hemoliz yaptığını, oksidaz ve katalaz aktivitelerinin pozitif, indol testinin negatif olduğunu, ayrıca tüm suşların Mac Conkey agarda ürediğini belirtmektedirler.

Yapılan araştırmada sığır pnömonik akciğerlerden izole edilen 32, koyun pnömonik akciğerlerden izole edilen 29 olmak üzere toplam 61 adet *P. haemolytica* suşunun tamamının koyun kanlı agarda hemoliz oluşturduğu tespit edilmiştir. Sığır ve koyunlara ait *P. haemolytica* suşlarının tamamının katalaz ve oksidaz aktiviteleri pozitif, indol reaksiyonları negatif bulunmuştur. Ayrıca tüm suşların Mac Conkey agarda 48-72 saatlik inkübasyon süresi sonunda üreme gösterdiği tespit edildi (Tablo.4).

Bu araştırmadaki identifikasyon kriterleri ile birçok araştırmacının sığır ve koyunlardan izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının identifikasyon kriterleri önemli derecede paralellik göstermektedir (18,25,94,103,127).

Pasteurella haemolytica suşlarının karbonhidrat fermantasyonuna göre biyotiplendirilmesinde; A biyotiplerinin arabinoz ve ksilozu, T biyotiplerinin ise trehaloz ve salisini fermente etme özelliklerinden yararlanılmaktadır (15,16,53).

Wessman ve Hilker (125), sığır pnömonik akciğerlerinden izole ettikleri 43, **Nakazawa ve Ishino (93)** 113, **Gündüz (69)** ise 48 *P. haemolytica* suşunun tamamını biyotip A olarak belirlediklerini bildirmektedirler. **Quire ve ark.(106)**, sığır pnömonik akciğerlerinden izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının %77.1'ini biyotip A, %6.7'sini biyotip T olarak belirlediklerini rapor etmektedirler. **Ball ve ark.(9)**, sığırlardan izole ettikleri 127 *P. haemolytica* suşundan 100'ünü biyotip A, 27'sini biyotip T, **Biberstein ve Gills (16)**, sığırlardan elde ettikleri 37 suşun 30'unu biyotip A, 7'sini ise biyotip T olarak ayırdıklarını bildirmektedirler.

Biberstein (15), koyun ve sığır pnömonilerinden izole edilen *P. haemolytica* suşlarının büyük bir çoğunluğunu, **Blanco-Viera ve ark.**(20) ise sığır ve koyunlara ait 40 *P. haemolytica* suşunun tamamını biyotip A olarak tespit ettiklerini bildirmektedirler. **Kodjo ve ark.**(79), koyun ve sığırlardan izole ettikleri toplam 133 *P. haemolytica* suşundan 90'nını biyotip A, 43'ünü biyotip T, **Mwangota ve ark.**(92), sığırlara ait 23 *P. haemolytica* suşunun tamamını biyotip A, koyunlara ait 163 suşun 120'sini biyotip A, 41'ini biyotip T olarak ayırdıklarını belirtmektedirler.

Pegram (101), koyun ve keçilere ait 24 *P. haemolytica* suşunun tamamını biyotip A olarak belirlerken, **Kaya ve Kırkan** (74), pnömonili koyunlardan izole ettikleri 48 *P. haemolytica* suşunun 35 (%72.9)'ünü biyotip T, 13 (%27.1)'ünü biyotip A, **Fodor ve ark.**(53), koyun ve keçi pnömonik akciğerlerinden izole ettikleri 201 *P. haemolytica* suşunun 186'sını biyotip A, 15'inin biyotip T olarak biyotiplendirmişlerdir. **Güler ve ark.** (68), koyunlardan izole ettikleri 119 *P. haemolytica* suşunun 9'unu biyotip T, 110'unu biyotip A olarak ayırdıklarını bildirmektedirler.

Araştırmada sığırlardan izole edilen toplam 32 adet *P. haemolytica* suşunun karbonhidrat fermentasyon test sonuçlarına göre tamamı biyotip A olarak tespit edildi. Aynı çalışmada koyunlara ait 29 adet *P. haemolytica* suşunun 18 (%62.1)'i biyotip T, 11 (%37.9)'i biyotip A olarak belirlendi.

Sığır suşlarının tamamının A biyotipi olarak biyotiplendirilmesi **Gündüz** (69), **Nakazawa ve Ishino** (93) ve **Wessman ve Hilker** (125)'in sonuçları ile tamamen benzerlik göstermektedir. Araştırmada sığır suşlarının tamamının A biyotipi olarak belirlenmesi, yörede pnömonik pasteurellosis infeksiyonuna neden olan *P. haemolytica* suşları içerisinde A biyotipinin dominant olduğunu göstermektedir.

Araştırmada koyun suşlarına ait biyotiplendirme bulguları, **Kaya ve Kırkan** (74)'in bulgularıyla paralellik gösterirken, T biyotiplerinin A biyotiplerine oranla daha fazla bulunması nedeniyle diğer araştırmacıların (15,20,68,92,101) bulgularından oldukça farklıdır.

Biberstein ve Gills (16), A biyotiplerinin tesbitinde arabinozdan ziyade ksiloz fermentasyonunun, T biyotiplerinin ayırımında ise salisine

nazaran trehaloz fermentasyonunu daha belirleyici olarak tespit ettiklerini bildirmektedirler. **Nakazawa ve Ishino (93)**, sığırlara ait 113 *P. haemolytica* suşunun 86'sının arabinozu fermente etmemesi üzerine, biyotiplendirme işlemini D-trehaloz, D-ksiloz, salisin, mannoz ve laktoz fermentasyonlarına göre belirlediklerini bildirmektedirler. **Güler ve ark.(68)**, koyunlardan izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının biyotiplendirilmesinde, biyotip A'ya ait suşlardan %34.5'nin arabinozu, %71.8'inin ise ksilozu fermente ettiğini bu nedenle ksiloz fermentasyonunun arabinoza göre daha güvenilir olduğunu savunmaktadırlar.

Bu araştırmada sığırlara ait 32 *P. haemolytica* suşunun 26(%81.8)'si ksilozu, 23(%71.8)'ü arabinozu, koyunlara ait 29 *P. haemolytica* suşunun 10 (%34.4)'u arabinozu, 8(%27.5)'i ksilozu, 7(%24.1)'i salisini, 18(%62.2)'i trehalozu fermente etmiştir. Bu bilgiler ışığında sığır suşlarının biyotiplendirme çalışmalarında ksiloz fermentasyonun, koyun suşlarının biyotiplendirilmesinde ise arabinoz, ksiloz ve trehaloz fermentasyonlarının daha belirleyici olduğu tesbit edildi.

Gündüz (69), sığırlara ait 48 *P. haemolytica* suşunun tamamını danofloksasin ve enrofloksasin'e karşı duyarlı bulurken, **Erdağ ve ark.(49)**, yaptıkları çalışmada sığırlardan elde ettikleri *P. haemolytica* izolatlarını bu iki antibiyotiğe karşı %95 oranında duyarlı bulduklarını bildirmektedirler. **Mevius ve Hartman (87)**, buzağılardan izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının yalnızca %2-6'sının streptomisin, gentamisin ve enrofloksasin'e, %16-53'nü ise tetrasiklin ve sülfametaksol trimethoprim'e karşı dirençli bulduklarını bildirmektedirler. Ancak aynı araştırmada sığır suşlarının %78'nin streptomisin'e dirençli, tamamının ise sülfametaksol trimethoprim'e duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. **Allan ve ark.(6)**, sığırlardan izole ettikleri toplam 127 *P. haemolytica* suşundan 121'ini streptomisin'e dirençli, 125'ini ise sülfametaksol trimethoprim'e duyarlı bulduklarını bildirmektedirler.

Bu çalışmada sığır pnömonik akciğerlerinden elde edilen 32 adet *P. haemolytica* suşuna yapılan antibiyogram testinde; suşların tamamının sülfametaksol trimethoprim, danofloksasin, enrofloksasin, gentamisin ve sefuroksim sodyum'a duyarlı olduğu belirlenirken, %87.5'nin tetrasiklin'e,

%84.3'ü kanamisin'e, %81.8'nin penisilin G (10 IU)'ye, %62.5'nin ise eritromisin'e, duyarlılık gösterdiği tespit edildi (Tablo.8).

Chang ve ark.(29), sığırlardan izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının tamamına yakını ampisillin ve penisilin'e, **Boyce ve Morter (21)**, ampisillin, penisilin, oksitetrasiklin ve streptomisin'e, **Rossmann ve ark.(114)**, streptomisin, ampisillin, penisilin ve tetrasiklin'e dirençli bulduklarını bildirmektedirler. **Kehrenberg ve ark.(75)**, sığır izolatlarında beta laktam antibiyotiklerine (tetrasiklin, aminoglikozidaz, sülfonamidaz ve kloramfenikol) karşı yaygın bir dirençliliğin oluştuğunu tespit ettiklerini bildirmektedirler.

Araştırmada sığır izolatlarının %93.8'inin ampisillin'e, %91'inin amoksisillin-klavulanik asit'e, %87.5'inin oksitetrasiklin'e, %78'inin streptomisin'e, %37.5'inin ise eritromisin'e dirençli olduğu tespit edildi (Tablo.8).

Diker ve ark.(46), pnömonik koyun akciğerlerinden izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının tamamını kloramfenikol ve linkomisin'e dirençli, penisilin, ampisillin, oksitetrasiklin, eritromisin ve streptomisin'e karşı duyarlı bulduklarını bildirmektedirler. **Diker ve ark.(47)**, pnömonili koyun akciğerlerinden izole ettikleri toplam 268 *P. haemolytica* suşunun biyotip A olanların tümünü penisilin'e duyarlı bulurken, biyotip T suşlarının tamamını dirençli bulduklarını belirtmektedirler. **Baysal ve ark.(12)**, pnömonili kuzu akciğerlerinden izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının penisilin dışındaki diğer antibiyotiklere karşı yaygın bir dirençlilik oluşturduğunu tespit ettiklerini bildirmektedirler. **Kaya ve Kırkan (74)**, pnömoni septomlu ve sağlıklı koyunların nasal akıntılarında izole ettikleri toplam 50 *P. haemolytica* suşundan biyotip A olanları; penisilin, ampisillin, oksitetrasiklin ve eritromisine duyarlı, streptomisin, kanamisin ve gentamisin'e karşı dirençli, biyotip T olanları ise; eritromisin, kanamisin ve gentamisin'e duyarlı, penisilin, ampisillin, oksitetrasiklin ve streptomisin'e karşı dirençli bulduklarını belirtmektedirler.

Araştırmada koyun pnömonik akciğerlerinden izole edilen 29 suşun tamamı sülfametaksol trimetoprim'e, danofloksasin'e, enrofloksasin ve sefuroksim sodyum'a duyarlı bulunurken, suşların %96.5'nin gentamisin ve

penisilin G (10 IU)'ye, %93.3'ünün streptomisin ve tetrasiklin'e, %89.5'inin kanamisin'e, %83'ünün ise eritromisin'e, duyarlılık gösterdiği belirlendi. Aynı araştırmada 29 suşun tamamının ampisillin'e, %83'ünün oksitetrasiklin'e, %82.4'ünün amoksisillin-klavulanik asit'e, %17'sinin eritromisin'e, %10.5'inin kanamisin'e, %6.7'sinin streptomisin ve tetrasiklin'e, %3.5'inin penisilin G (10 IU) ve gentamisin'e direnç gösterdiği tespit edildi (Tablo.8).

Araştırmada değerlendirilen 125 sığır pnömonik akciğerinden 32 (%25.6), 106 koyun pnömonik akciğerinden 29 (%27.3) olmak üzere toplam 61 adet *P. haemolytica* izole edilmiştir. Araştırmada izole edilen *P. haemolytica* suşlarının biyotiplendirmesinde A biyotiplerinin ksilozu arabinoza göre daha fazla oranda fermente etmesi sonucu, ksiloz fermentasyonunun daha güvenilir olabileceği kanaatine varılmıştır. İzole edilen *P. haemolytica* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının tespitinden elde edilen sonuçlar ampisillin ve amoksisillin dışındaki diğer antibiyotiklere karşı yörede yaygın bir dirençliliğin oluşmadığını ortaya koymaktadır.

Bu sonuçlar yöre sığır ve koyunlarının pnömoni olgularında *P. haemolytica*'nın önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir. Ancak pnömoni olguları multifaktöriyel bir etiyolojiye sahiptir. Bu nedenle pnömonilerin etiyolojisinin aydınlatılması için diğer bakteriyel ve viral etkenlerin de dikkate alınacağı çalışmaların yapılması gerektiği kanatine varılmıştır.

5. ÖZET

Sığır ve koyunlara ait pnömonik akciğerlerden *Pasteurella haemolytica*'nın izolasyonu, identifikasyonu, biyotiplendirilmesi ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi

Bu çalışma pnömonik sığır ve koyun akciğerlerinden *P. haemolytica* suşlarının izolasyonu, identifikasyonu, biyotiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla yapıldı.

Çalışmada 125'i sığır, 106'sı koyun olmak üzere toplam 231 adet pnömonik akciğer kullanıldı. Araştırmada kullanılan 125 adet sığır pnömonik akciğerinin 101'i Kars Belediye Mezbahanesinde, 24'ü Özel Et ve Balık Kombinasında kesime sevk edilen 1 yaş ve üzeri sığırlardan temin edildi. Aynı araştırmada kullanılan 106 adet pnömonik koyun akciğerinin tamamı Kars Belediye Mezbahanesinde kesime sevk edilen 1 yaş ve üzeri koyunlardan temin edildi.

Çalışmada sığır pnömonik akciğerlerinden 32 (%26), koyun pnömonik akciğerlerinden 29 (%37.3) olmak üzere toplam 61 adet *P. haemolytica* suşunun izolasyonu ve identifikasyonu yapıldı. Sığırlara ait toplam 32 *P. haemolytica* suşunun 8'i saf, 24'ü diğer bakteri türleri ile birlikte, koyunlara ait 29 *P. haemolytica* suşunun 4'ü saf, 25'i diğer bakteri türleri ile birlikte izole edildi.

Sığır pnömonik akciğerlerinden tanımlanmış toplam 32 *P. haemolytica* suşunun 23 (%71.8)'ü arabinozu, 26 (%81.8)'si ksilozu, 6 (%18.7)'si de salisini fermente etmiştir. Ksiloz ve arabinoz fermentasyonu sonuçları ışığında 32 adet *P. haemolytica* suşunun tamamı A biyotipi olarak biyotiplendirildi. Koyun pnömonik akciğerlerinden tanımlanmış toplam 29 *P. haemolytica* suşunun 10 (%34.4)'u arabinozu, 8 (%27.5)'i ksilozu, 7 (%24.1)'si salisini, 18 (%62.2)'i trehalozu fermente etmiştir. Karbonhidrat fermentasyon sonuçlarına göre suşlardan 18 (%62.2)'i biyotip T, 11 (%37.9)'i biyotip A olarak biyotiplendirildi.

Sığır ve koyunlardan elde edilen toplam 61 *P. haemolytica* suşunun antibiyotik duyarlılıkları disk diffüzyon yöntemiyle tespit edildi. Sığır pnömonik

akciğerlerinden identifiye edilen 32 *P. haemolytica* suşunun antibiyogram testinde; tüm suşlar sülfametaksol trimethoprim, danofloksasin, enrofloksasin, gentamisin ve sefuroksim sodyum'a duyarlı bulunurken, 28 suşun tetrasiklin'e, 26 suşun penisilin G'ye, 27 suşun kanamisin'e, 8 suşun da oksitetrasiklin'e duyarlı olduğu tespit edildi. Aynı antibiyogramda 30 suşun ampisillin'e, 29 suşun amoksisillin-klavulanik asit'e, 25 suşun streptomisin'e, 24 suşun oksitetrasiklin'e, 12 suşun da eritromisin'e dirençli olduğu belirlendi. Koyun pnömonik akciğerlerinden identifiye edilen 29 *P. haemolytica* suşuna yapılan antibiyogram testinde; 29 suşun tamamının sülfametaksol trimethoprim'e, danofloksasin, enrofloksasin, gentamisin ve sefuroksim sodyum'a, 28 suşun gentamisin'e, 24 suşun eritromisin'e, 27 suşun streptomisin'e, 27 suşun tetrasiklin'e, 28 suşun penisilin G (10 IU)'ye, 26 suşun kanamisin'e duyarlı olduğu tespit edildi. Aynı testte 29 suşun tamamının ampisillin'e, 23 suşun amoksisillin-klavulanik asit'e, 24 suşun da oksitetrasiklin'e direnç gösterdiği tespit edildi.

Araştırmada A biyotiplerinin ksilozu, arabinoza nazaran daha fazla fermente etmesi ve trehalozu fermente etmemesi nedeniyle, biyotiplendirme çalışmalarında ksiloz ve trehaloz fermentasyonunun arabinoza oranla daha güvenilir olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: *Pasteurella haemolytica*, sığır, koyun, pnömoni, antibiyotik duyarlılık

6. SUMMARY

The isolation of *Pasteurella haemolytica* from pneumonic lungs of cattle and sheep, and identification, biotyping and determination of the antibiotic susceptibility of the isolates.

This study aimed at investigating isolation, identification, biotyping and determination of antibiotic resistance of *Pasteurella haemolytica* strains isolated from cattle and sheep with pneumonia.

A total of 231 pneumonic lung samples (125 from cattle and 106 from sheep) were used in the study. Of the cattle samples, 101 were obtained from a local state-run slaughterhouse and 24 were from a private slaughterhouse in Kars. All the sheep samples were collected at the local state-run slaughterhouse. All animals from which the samples were taken were over 1 year old.

A total of 61 *P. haemolytica* strains, 32 (%26) from cattle and 29 (%37.3) from sheep were isolated and identified in the present study. Of the cattle strains isolated, eight were obtained as pure culture and 24 were as mixed culture. Of the sheep isolates, four were obtained as pure culture whereas 25 were as mixed culture.

Of the 32 cattle isolates of *P. haemolytica*, 23 (%71.8) fermented arabinose, 26 utilised xylose (%81.8) and 6 fermented salicine (%18.7). Based on these fermentation results, all cattle isolates were biotyped as biotype A. Of the 29 sheep isolates of *P. haemolytica*, 10 (%34.4) fermented arabinose, 8 (%27.5) utilised xylose, 7 (%24.1) fermented salicine and 18 (%62.2) trehalose. According to these test results, 18 (%62.2) sheep isolates were found as biotype T and 11 (%37.9) isolates were found as biotype A.

All *P. haemolytica* strains (nos 61) isolated from sheep and cattle were tested for their susceptibility to various antimicrobial agents using a disc diffusion method. Of the 32 cattle isolates tested, all were found susceptible to sulfamethoxazole/trimethoprim, danofloxacin, enrofloxacin, gentamicin and cefuroxime sodium. Of these isolates, twenty-eight; 26, 27 and 28 were

found susceptible to tetracycline, penicillin G, kanamycin and oxytetracycline, respectively. On the other hand, thirty, 29, 25, 24 and 12 isolates were found resistant to ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, streptomycin, oxytetracycline and erythromycin, respectively.

Of the 29 sheep isolates tested, all were susceptible to sulfamethoxazole/trimethoprim, danofloxacin, enrofloxacin and cefuroxime sodium. In addition, twenty-eight, 24, 27, 27, 28 and 26 isolates were found susceptible to gentamicin, erythromycin, streptomycin, tetracycline, penicillin and kanamycin, respectively. All 29 sheep isolates tested were found resistant to ampicillin. In addition, twenty-nine and 23 isolates were resistant to amoxicillin-clavulanic acid and oxytetracycline, respectively.

Biotype A strains of *P. haemolytica* isolated in this study utilised xylose better than arabinose and did not ferment trehalose. Therefore, it may be suggested that fermentation of xylose and trehalose are more reliable than that of arabinose when performing biotyping.

Key Words: *Pasteurella haemolytica*, cattle, sheep, pneumonia, antibiotic susceptibility.

7. KAYNAKLAR

1. **Ackermann, M.R., Brodgen, K.A.:** Response of the ruminant respiratory tract to *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica*. *Microbes. Infect.* 2 (9): 1079-1088, 2000.
2. **Adlam, C.:** The structure function and properties of cellular and extracellular components of *Pasteurella haemolytica*. 75-94. In: Adlam, C. and Rutter, J.M. (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press. Inc. New York, 1989.
3. **Adusu, T.E., Conlon, P.D., Shewen, P.E., Black, W.D.:** *Pasteurella haemolytica* leukotoxin induces histamine release from bovine pulmonary mast cells. *Can.J.Vet.Res.* 58: 1-5, 1994.
4. **Ali, Q., Davies, R.L., Parton, R., Gibbs, H.A.:** Lipopolysaccharide heterogeneity in *Pasteurella haemolytica* isolates from cattle and sheep. *J. Gen. Microbiol.* 138: 2185-2195, 1992.
5. **Al-Ghamdi, G.M., Ames, T.R., Baker, J.C., Walker, R., Chase, C.C., Frank, G.H., Maheswaran, S.K.:** Serotyping of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* isolates from the upper Midwest United States. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12 (6): 576-578, 2000.
6. **Allan, E.M., Wiseman A, Gibbs, H.A., Selman I.E.:** *Pasteurella* species isolated from the bovine respiratory tract and their antimicrobial sensitivity patterns. *Vet. Rec.* 117: 629-631, 1985.
7. **Aydın, N.:** Pasteurellaceae familyası. 64-74. İçinde: Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Kahraman, M., Akay, Ö., Ilgaz, A., İzgür, M., Diker, K.S. Özel Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar. Medisan Yayın serisi, No:26, 4. Baskı, Ankara, 1997.
8. **Bakke, T.:** The occurrence of *Mycoplasma* and bacteria in lungs from sheep in Southern Norway. *Acta. Vet. Scand.* 23: 235-247, 1982.

9. Ball, H.J., Connolly, M and Cassidy, J.: *Pasteurella haemolytica* serotypes isolated in Northern Ireland during 1989-1991. Br. Vet. J. 149 (6): 561-570, 1993.

10. Baluyut, C.S., Simonson, R.R., Bemrick, W.J., Maheswaran, S.K.: Interaction of *Pasteurella haemolytica* with bovine neutrophils: Identification and partial characterization of a cytotoxin. Am.J.Vet.Res. 42 (11): 1920-1926, 1982.

11. Baysal, T., Güler, L.: Konya yöresindeki kuzu ve oğlakların enzootik pnömonilerinden bakteriyel etken izolasyonu. Veterinarium 3 (1):1-5, 1992.

12. Baysal, T., Güler, L., Gündüz, K.: Koyun pnömonilerinden izole edilen *Pasteurella haemolytica* suşlarının sensitivite yöntemi ile antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi. Veterinarium 5 (1-2): 13-16, 1994.

13. Bercovier, H., Mollaret, H.H.: Genus XIV Yersinia. 498-506 In: Krieg, N.R. and Holt, J.G. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. I. Williams and Wilkins. Baltimore, 1984.

14. Berkin, Ş., Kıran, M.M., Kaya, O., Kaya, Z.: Konya Bölgesi enzootik pnömonilerinde patolojik ve etiyolojik araştırmalar. Selçuk Üniv. Araştırma Projeleri Sonuçları (özetler-3) : 258-259, Konya, 1993.

15. Biberstein, E.L.: Biotyping and serotyping of *Pasteurella haemolytica*. 253-267. In: Bergen, T. and Norris, R.J. (Eds.) Methods in Microbiology. Academic Press. Inc. New York, 1978.

16. Biberstein, E.L., Gills, M.G: The relation of the antigenic types to the A and T types of *Pasteurella haemolytica*. J. Com. Path. 72: 316-320, 1962.

17. Biberstein, E.L., Gills, M.G., Knight, H.: Serological types of *Pasteurella haemolytica*. Cornell. Vet. 50: 283-300, 1960.

18. Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteriyel İnfeksiyonlar. Fakülteler kitabevi, Barış yayınları İzmir, 1987.

19. Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler kitabevi, Barış yayınları İzmir, 1992.

20. **Blanco-Viera, F.J., Trigo, F.J., Jaramillo-Meza, L., Aquilar-Romero, F.:** Serotypes of *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica* isolated from pneumonic lesions in cattle and sheep from Mexico. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*. 37 (2): 121-126, 1995.

21. **Boyce, J.R., Morter, R.L.:** Plasmid profile analysis of bovine isolates of *Pasteurella haemolytica*. *Am. J. Vet. Res.* 47 (6): 1204-1206, 1986.

22. **Cameron, C.M., Bester, F.J.:** Response of sheep and cattle to combined polyvalent *Pasteurella haemolytica* vaccines. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 53: 1-7, 1986.

23. **Cardella, M.A., Advientio, M.A., Nervig, R.M.:** Vaccination studies against experimental bovine *Pasteurella* pneumonia. *Can. J. Vet. Res.* 51: 204-211, 1987.

24. **Carter, G.R.:** Genus I *Pasteurella*. 552-558. In: Krieg, N.R. and Holt, J.G. (Eds.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. I. Williams and Wilkins. Baltimore, 1984.

25. **Carter, G.R., Chengappa, M.M.:** Haemorrhagic septicaemia. 131-160. In: Adlam, C. and Rutter, J.M. (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press. Inc. New York, 1989.

26. **Chae, C.H., Gentry, M.J., Confer, A.W., Anderson, G.A.:** Resistance to host immune defense mechanism offered by capsular material of *Pasteurella haemolytica* serotype 1. *Vet. Microbiol.* 25:241-251, 1990.

27. **Chang, Y.F.:** *Pasteurella haemolytica* exotoxin: Chemical, biological and immunological characterization of a leukotoxin produced by *Pasteurella haemolytica*. *Dissertation Abstract International*. 45 (5): 1334-1335, 1984.

28. **Chang, Y.F., Renshaw, H.W., Augustine, J.L.:** Bovine pneumonic pasteurellosis: Chemiluminescent response of bovine peripheral blood leukocytes to living and killed *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* 46 (11): 2266-2271, 1985.

29. Chang, Y.F., Harland, W.R., Young, R.: Pneumonic pasteurellosis: Examination of typable and untypable *Pasteurella haemolytica* strains for leukotoxin production, plasmid content and antimicrobial susceptibility. Am. J. Vet. Res. 48 (3): 378-384, 1987.

30. Chang, Y.F., Renshaw, H.W., Richards, A.B.: *Pasteurella haemolytica* leukotoxin: Physicochemical characteristics and susceptibility of leukotoxin to enzymatic treatment. Am. J. Vet. Res. 47 (4): 716-722, 1986.

31. Clinckkenbeard, K.C., Mosier, D.A., Confer, A.W.: Transmembrane pore size and role of cell swelling in cytotoxicity caused by *Pasteurella haemolytica* leukotoxin. Infec. Immun. 57 (2): 420-425, 1989.

32. Collier, J.R.: Significance of bacteria in bovine respiratory disease. J.A.V.M.A. 153 (12): 1645-1651, 1968.

33. Confer, A.W.: Immunogens of *Pasteurella*. Vet. Microbiol. 37 (3-4): 353-358, 1993.

34. Confer, A.W., McCraw, R.D., Durham, J.A., Morton, R.J., Panciera, R.J.: Serum antibody responses of cattle to iron-regulated outer membrane proteins of *Pasteurella haemolytica* A1. Vet. Immunol Immunopathol. 47 (1-2): 101-110, 1995.

35. Confer, A.W., Panciera, R.J., Fulton, R.W., Gentry, M.J., Fulton, R.W.: Immunologic response and resistance to experimentally induced pneumonic pasteurellosis in cattle vaccinated with various dosages of lyophilized *Pasteurella haemolytica*. Am. J. Vet. Res. 47 (8): 1853-1856, 1986.

36. Confer, A.W., Panciera, R.J., Fulton, R.W., Gentry, M.J., Fulton, R.W.: Immunological response to *Pasteurella haemolytica* and resistance against experimental bovine pneumonic pasteurellosis, induced by bacterins in oil adjuvants. Am. J. Vet. Res. 48 (2): 163-168, 1987.

37. Confer, A.W., Panciera, R.J., Mosier, D.A.: Serum antibodies to *Pasteurella haemolytica* lipopolysaccharide: Relationship to experimental bovine pneumonic pasteurellosis. Am. J. Vet. Res. 47 (5): 1134-1138, 1986.

38. Confer, A.W., Panciera, R.J., Mosier, D.A.: Bovine pneumonic pasteurellosis. Immunity to *Pasteurella haemolytica*. J.A.V.M.A. 10 (15): 1308-1316, 1988.

39. Confer, A.W., Panciera, R.J., Fulton, R.W., Gentry, M.J., Rummage, J.A.: Effect of vaccination with live or killed *Pasteurella haemolytica* on resistance to experimental bovine pneumonic pasteurellosis. Am. J. Vet. Res. 46 (2): 342-347, 1985.

40. Craft, D.L., Chengappa, M.M., Carter, G.R.: Differentiation of *Pasteurella haemolytica* biotypes A and T with lectins. Vet. Rec. 120 (18): 393, 1987.

41. Czupryński, J.C., Hamilton, H.L., Noel, E.J.: Ingestion and killing of *Pasteurella haemolytica* A1 by bovine neutrophils in vitro. Vet. Microbiol. 14: 61-74, 1987.

42. Czuprynski, J.C., Noel, E.J., Carranza, O., Srikumaron, S.: Activation of bovine neutrophils by partially purified *Pasteurella haemolytica* leukotoxin. Infec. Immun. 59 (9): 3126-3133, 1991.

43. Davies, D.H.: Aetiology of pneumonias of young sheep. Prog. Vet. Microbiol. Immun. 1: 229-248, 1985.

44. Davies, R.L., Donachie, W.: Intra - specific diversity and host specificity within *Pasteurella haemolytica* based on variation of capsular polysaccharide, lipopolysaccharide and outer membrane proteins. Microbiol. 142 (7): 1895-1907, 1996.

45. Diker, K.S., Akan, M.: Evaluation of immunogenicity of *Pasteurella haemolytica* serotypes in experimental models. Turkish J. Vet. Anim. Sci. 24: 139-143, 2000.

46. Diker, K.S., Akan, M., Hazıroğlu, R.: Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic ovine lungs. Vet. Rec. 134: 597-598, 1994.

47. Diker, K.S., Kaya, O., Akan, M.: Koyun pnömonik (*Pasteurella*) infeksiyonlarına karşı aşı geliştirme çalışmaları. VHAG-997 Nolu proje, 1995.

- 48. Durham, J.A., Antone, S.M., Cunningham, M.W., Confer, A.W.:** Monoclonal antibodies to *Pasteurella haemolytica* serotype 1 lipopolisaccharide: demonstration of antigenic similarities among several serotypes. J. Clin. Microbiol. 26 (5): 885-889, 1988.
- 49. Erdağ, O., Erdoğan, İ., Türkaslan, J., Gürel, A.:** Buzağı ve dana pnömonilerinde mikoplazma ve bakteriyel etkenlerin izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Pendik Vet. Microbiol. Derg. 24 (2): 143-148, 1993.
- 50. Erganiş, O.:** Mikrobiyoloji ve İmmunoloji. Sağlık Bakanlığı Konya Sağlık Eğitimi Enstitüsü Yay. No:2 Konya, 1992.
- 51. Feist, H., Geschwend, G., Erler, W., Schimmel, D.:** Investigation on the proteins from the outer membrane of *Pasteurella* 1st communication: polyacrylamide gel electrophoresis of other membrane proteins as a possibility for differentiation of *Pasteurella haemolytica* strains. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 108: 249-252, 1995.
- 52. Fillion, L.G., Cho, H.J., Shewen, P.E., Raybould, T.J.G., Wilkie, B.N.:** Comparison of serological techniques to measure antibody to *Pasteurella haemolytica* strains. Can. J. Comp. Med. 49: 99-103, 1985.
- 53. Fodor, L., Varga, J., Hajtos, I., Szemerédi, G.Y.:** Serotypes of *Pasteurella haemolytica* isolated from sheep, goats and calves. Zbl. Vet. Med. 31: 466-469, 1984.
- 54. Fodor, L., Varga J., Hajtos, I.:** Characterization of *Pasteurella haemolytica* strains isolated from cattle. Lapja. 43 (9): 567-569, 1988.
- 55. Fodor, L., Varga, J., Hajtos, I., Moynar, T.:** Serotypes of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* isolated from farm animals in Hungary. Zentralbl. Veterinarmed. 46 (4): 241-247, 1999.
- 56. Frank, G.H.:** Serotypes of *Pasteurella haemolytica* in sheep in the midwestern United States. Am. J. Vet. 43 (11): 2035-2037, 1982.
- 57. Frank, G.H.:** The role of *Pasteurella haemolytica* in the bovine respiratory disease complex. Vet. Med. 12: 841-846, 1986.

58. Frank, G.H.: Pasteurellosis of cattle. 197-222. In: Adlam, C. and Rutter, J.M. (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press. Inc. New York, 1989.
59. Frank, G.H., Smith, P.C.: Prevalance of *Pasteurella haemolytica* in transported calves. *Am. J. Vet. Res.* 44 (6): 981-985, 1983.
60. Frank, G.H., Briggs, R.E. : Colonization of the tonsils of calves with *Pasteurella haemolytica*. *Am. J. Vet. Res.* Vol. 53 (4): 481-484, 1992.
61. Frederikson, W.: Pasteurellosis of man. 303-320. In: Adlam, C. and Rutter, J.M. (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press. Inc. New York, 1989.
62. Gentry, M.J., Confer, A.W., Kreps, J.A.: Simple visual assay for determination of *Pasteurella haemolytica* cytotoxin neutralizig antibody titers in cattle sera. *J. Clin. Microbiol.* 22: 968-972, 1985.
63. Gilmour, N.J.L., Angus, K.W.: Pasteurellosis. 3-8, In: Martin, W.B. (Ed.) *Disease of sheep*. Blackwell Scientific publication. London, 1983.
64. Gilmour, N.J.L., Gilmour, J.S.: Pasteurellosis of sheep: *Pasteurella* and *Pasteurellosis*. 223-262. In: Adlam, C. and Rutter, J.M. (Eds.) *Academic Press. Inc. New York*, 1989.
65. Girgin, H., Nedret, A., Canbazoğlu, M., Aksoy, E.: İç Anadolu bölgesinde buzağı pnömonisinde rol oynayan bakteriler ile bunların meydana getirdiği lezyonların patolojik özellikleri. Uluslararası önemli buzağı hastalıkları sempozyumu. Etlik Ankara, 1989.
66. Grey, C.L., Thomson, R.G.: *Pasteurella haemolytica* in the tracheal air of calves. *Can. J. Comp. Med.* 35: 121-128, 1971.
67. Güler, L.: Pnömonili koyun ve keçilerden mikoplazmaların izolasyonu, identifikasyonu ve bazı antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi. Doktora Tezi. Selçuk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Konya, 1993.
68. Güler, L., Baysal, T., Gündüz, K., Erganiş, O., Kaya, O., Orhan, G.: Koyun ve keçilerden izole edilen *Pasteurella haemolytica* suşlarının biyotip ve serotiplendirilmesi. *Veterinarium* 7 (1-2): 6-13, 1996.

- 69. Gündüz, K.:** Pnömonili sığır akciğerlerinden izole edilen *Pasteurella haemolytica* suşlarının biyotiplendirilmesi, serotiplendirilmesi. Doktora tezi. Selçuk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Konya, 1997.
- 70. Hamdy, A.H., Trap, A.L.:** Investigation of nasal microflora of feedlot calves before and after weaning. Am. J. Vet. Res. 28 (125): 1019-1025, 1967.
- 71. Hazıroğlu, R., Diker, K.S., Gülbahar, M.Y., Akan, M., Güvenç, T.:** Studies of pathology and microbiology of pneumonic lungs of lambs. Dtsch. Tierarztl. Wschr. 101: 441-443, 1994.
- 72. Houghton, S.B., Gourlay, R.N.:** Bacteria associated with calf pneumonia and their effect on gnotobiotic calves. Res. Vet. Sci. 37: 194-198, 1984.
- 73. Kaya, O., Erganiş, O.:** Koyun ve kuzu pnömonileri üzerinde etiyolojik survey. Veterinarium 2 (3-4): 27-29, 1991.
- 74. Kaya, O., Kırkan, Ş.:** Aydın bölgesindeki sağlıklı ve pnömoni şüpheli koyunlardan *Pasteurella haemolytica*'nın izolasyonu, biyotip tayini ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Bornova Vet. Kont. Araştırma Enstitüsü Derg. 24 (38): 21-25, 1999.
- 75. Kehrenberg, C., Schulze-Tanzi, G., Martel, J.L., Dancla, E.C., Schwarz, S.:** Antimicrobial resistance in *Pasteurella* and *Mannheimia*: epidemiology and genetic basis. Vet. Res. 32 (3-4): 323-339, 2001.
- 76. Kıran, M.M.:** Konya bölgesi kuzu pnömonilerinde patolojik ve etiyolojik araştırmalar. Doktora tezi. Selçuk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Konya, 1990.
- 77. Kilian, M., Biberstein, E.:** Genus II Haemophilus. 558-569. In: Krieg, N.R. and Holt, J.G. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins. Baltimore, 1984.
- 78. Knights, J.M., Adlam, C., Owen, P.:** Characterization of envelope proteins from *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida*. J. Gen. Microbiol. 136: 495-505, 1990.

79. Kodjo, A., Villard, L., Bizet, C., Martel, J.L., Sanchis R., Borges, E., Gauthier, D., Maurin, F., Richard, Y.: Pulsed-field gel electrophoresis is more efficient than ribotyping and random amplified polymorphic DNA analysis in discrimination of *Pasteurella haemolytica* strains. J. Clin. Microbiol. 37 (2):380-385, 1999.
80. Lee, C.W., Shewen, P.E., Cladman, W.M., Conlon, J.A.R., Mellors, A., Lo, R.Y.C.: Nucleotide sequence of the leukotoxin genes of *Pasteurella haemolytica* A1. Infec. Immun. 55 (9):1987-1996, 1987.
81. Lübke, A., Hartmann, L., Schroder, W., Hellman, E.: Isolation and partial characterization of the major protein of the outer membrane of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida*. Zbl. Bakt. 281: 45-54, 1994.
82. Manning, P.J., DiGiacoma, R.F., DeLong, D.: Pasteurellosis in laboratory animals. 263-302. In: Adlam, C. and Rutter, J.M. (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press. Inc. New York, 1989.
83. McIlroy, S.C., Goodall, E.A., McCracken, R.M., Stewart, D.A.: Rain and windchill as factors in the occurrence of pneumonia in sheep. Vet. Rec. 125: 79-82, 1989.
84. McKercher, D.G.: Bovine respiratory infections. J.A.V.M.A. 152 (6):729-737, 1968.
85. McKinney, K.L., Confer, A.W., Rummage, J.A., Gentry, M.J., Durham, J.A.: *Pasteurella haemolytica*: Purification of saline-extractable proteins by isoelectrofocusing. Vet. Microbiol. 10: 465-480, 1985.
86. McVey, D.S., Loan, R.W., Purdy, C.W., Richards, A.E.: Antibodies to *Pasteurella haemolytica* somatic antigens in two models of the bovine respiratory disease complex. Am. J. Vet. Res. 50 (4):443-447, 1989.
87. Mevius, D.J., Hartman, E.G.: In vitro activity of 12 antibiotics used in veterinary medicine against *Mannheimia(Pasteurella) haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from calves in the Netherlands. Tijdschr. Diergeneesk. 125 (5): 147-152, 2000.

- 88. Mosier, D.A., Simons, K.R., Chengappa, M.M., Confer, A.W.:** Antigenic composition of *Pasteurella haemolytica* serotype-1 supernatants from supplemented and nonsupplemented media. Am. J. Vet. Res. Vol. 55: 348-352, 1994.
- 89. Murphy, G.L., Robinson, L.C., Burrows, G.E.:** Restriction endonuclease analysis and ribotyping differentiate *Pasteurella haemolytica* A1 isolates from cattle within a feedlot. J. Clin. Microbiol. 31 (9): 2303-2308, 1993.
- 90. Murray, J.E., Davies, R.C., Lanson, F.A., Wilson, C.F., Donachie, W.:** Antigenic analysis of iron-regulated proteins in *Pasteurella haemolytica* A and T biotypes by immunoblotting reveals biotype-specific epitopes. J. Gen. Microbiol. 138: 283-288, 1992.
- 91. Mutter, R., Mannheim, W., Bisgaard, M.:** Taxonomy of the group. 3-34. In: Adlam, C. and Rutter, J.M. (Eds.) *Pasteurella* and *Pasteurellosis*. Academic Press. Inc. New York, 1989.
- 92. Mwangota, A.U., Muhammed, S.I., Thomson, R.G.:** Serological types of *Pasteurella haemolytica* in Kenya. Cornell Vet. 68: 84-93, 1978.
- 93. Nakazawa, M., Ishino, S.:** Serovars and biovars of *Pasteurella haemolytica* isolated from calves. Jpn. J. Vet. Sci. 44: 459-463, 1982.
- 94. Nelson, S.L., Frank, G.H.:** Bovine serum and nasal secretion immunoglobulins against *Pasteurella haemolytica* serotype 1 antigens. Am. J. Vet. Res. 50 (8): 1244-1248, 1989.
- 95. Olmos, A., Biberstein, E.L.:** Differentiation of *Pasteurella haemolytica* biotypes A and T with growth inhibitors. J. Clin. Microbiol. 10 (2): 231-234, 1979.
- 96. Opuda-Asibo, J., Maheswaran, S.K., Leininger, J.R.:** Measurement of *Pasteurella haemolytica*-specific lung and serum antibodies by ELISA. Vet. Microbiol. 12: 337-351, 1986.
- 97. Otlu, S.:** Kars yöresinde koyun pnömonilerinden Mikoplazma'ların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi. Etlik Vet. Mikrobiol. Derg. 9 (1): 157-174, 1997.

98. Otulakowski, G.L., Shewen, P.E., Udoh, A.E., Mellors, A., Wilkie, B.N.: Proteolysis of sialoglycoprotein by *Pasteurella haemolytica* cytotoxic culture supernatant. *Infect. Immun.* 42 (1): 64-70, 1983.

99. Özer, H., Gülcü, H.B.: Kuzu ve oğlakların enzootik pnömonileri ile ilgili gözlemler. *Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg.* 2: 135-141, 1986.

100. Özkan, Ö., Bulu, A.A., Dörterler, R., Hoştürk, F.: Kars yöresinde önemli salgın ve belirli sendromlarla seyreden hayvan hastalıklarının epidemiyolojisi üzerine araştırmalar. *Etilik Vet. Mikrobiol. Derg.* 7 (4): 115-135, 1993.

101. Pegram, R.G.: Serological types of *Pasteurella haemolytica* isolated from sheep and goats in the Somali Democratic Republic. *Trop. Animal Hlth. Prod.* 6: 189-191, 1974.

102. Phillips, J.E.: Genus III Actinobacillus. 570-575 In: Krieg, N.R. and Holt, J.G. (Eds.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins. Baltimore, 1984.

103. Purdy, C.W., Scanlan, C.M., Loan, R.W., Foster, G.S.: Identification of *Pasteurella haemolytica* A1 isolates from market-stressed feeder calves by use of enzyme and antimicrobial susceptibility profiles. *Am. J. Vet. Res.* Vol. 54 (1): 92-98, 1993.

104. Potgieter, L.N.D., McCracken, M.D., Hopkins, F.M., Walker, R.D., Guy, J.S.: Experimental production of bovine respiratory tract disease with bovine viral diarrhoea virus. *Am. J. Vet. Res.* 45 (8): 1582-1585, 1984.

105. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Carter, G.R.: *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby-Year Book, Europe Limited, 254-258, Dublin, 1994.

106. Quire, M., Donachie, W., Gilmour, N.J.L.: Serotypes of *Pasteurella haemolytica* from cattle. *Vet. Rec.* 26: 93-94, 1986.

107. Radostits, O.M., Blood, D.C., Gay, C.C.: *Veterinary medicine. A textbook of the disease of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. Bailliere Tindall, London 1994.

108. Ramsey, F.K., Brown, L.N., Bicknell, E.J., Van Der Maaten, M.L., Peter, C.P.: Field cases of bovine respiratory disease in Iowa. *J.A.V.M.A.* 152 (6): 751-755, 1968.

109. Reynolds, H.Y.: Immunologic system in the respiratory tract. *Physiol. Rev.* 71(4): 751-755, 1991.

110. Richards, A.B., Renshaw, H.W.: Bovine pneumonic pasteurellosis. Evaluation of interactions between bovine pulmonary lavage cells and *Pasteurella haemolytica* (biotype A, serotype 1) using a luminol-dependent chemiluminescence assay. *Am. J. Vet. Res.* 47 (6): 1217-1224, 1986.

111. Richards, A.B., Renshaw, H.W.: Functional and metabolic activity of bovine pulmonary lavage cells phagocytically stimulated with pathogenic isolates of *Pasteurella haemolytica*. *Am. J. Vet. Res.* 50 (3): 329-333, 1989.

112. Richards, A.B., Renshaw, H.W., Sneed, L.W.: *Pasteurella haemolytica* bacteriophage: Identification partial characterization and relationship of temperate bacteriophages from isolates of *Pasteurella haemolytica* (biotypes A, serotype 1). *Am. J. Vet. Res.* 46 (5): 1215-1220, 1985.

113. Rimler, R.B., Rhoades, K.R.: *Pasteurella multocida*. 37-74. In: Adlam, C. and Rutter, J.M. (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press. Inc. New York, 1989.

114. Rossmanith, S.E.R., Wilt, G.R., Wu, G.: Characterization and comparison of antimicrobial susceptibilities and outer membrane protein and plasmid DNA profiles of *Pasteurella haemolytica* and certain other members of the genus *Pasteurella*. *Am. J. Vet. Res.* 52 (12): 2016-2022, 1991.

115. Schimmel, D., Fodor, L., Stein, I., Putsche, R.: Typing and virulence testing of *Pasteurella haemolytica* field strains. *Arch. Exp. Veterinarmed.* 44 (2): 295-300, 1990.

116. Shewen, P.E., Wilkie, B.N.: Evidence for the *Pasteurella haemolytica* cytotoxin as a product of actively growing bacteria. *Am. J. Vet. Res.* 46 (5): 1212-1214, 1983.

117. Shewen, P.E., Wilkie, B.N.: Vaccination of calves with leukotoxinculture supernatant from *Pasteurella haemolytica*. *Can. J. Vet. Res.* 52: 30-36, 1988.

118. Slocombe, R.F., Derksen, F.J., Robinson, N.E.: Interactions of colds stress and *Pasteurella haemolytica* in the pathogenesis of pneumonic pasteurellosis in calves: Changes in pulmonary function. *Am. J. Vet. Res.* 45 (9): 1764-1770, 1984.

119. Slocombe, R.F., Mulks, M., Killingsworth, C.R., Derksen, F.J., Robinson, N.E.: Effect of *Pasteurella haemolytica*-derived endotoxin on pulmonary structure and function in calves. *Am. J. Vet. Res.* 51(3): 433-438, 1990.

120. Squire, P.H., Smiley, D.W., Croskell, R.B.: Identification and extraction of *Pasteurella haemolytica* membrane proteins. *Infec. Immun.* 45 (3): 667-673, 1984.

121. Straus, D.C., Jolley, W.L., Purdy, C.W.: Characterization of neuroaminidases produced by various serotypes of *Pasteurella haemolytica*. *Infec. Immun.* 61(11): 4669-4674, 1993.

122. Şahin, M.: Kars yöresinde sığır pnömonilerinden Mikoplazmaların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi. *Etilik Vet. Mikrobiol. Derg.* 9 (2): 71-89, 1997.

123. Tigges, M.G., Loan, R.W.: Serum antibody response to purified *Pasteurella haemolytica* capsular polysaccharide in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 54 (6):856-861, 1993.

124. Walker, R.D., Hopkins, F.M., Schultz, T.W., McCracken, M.D.: Changes in leukocyte population in pulmonary lavage fluids of calves after inhalation of *Pasteurella haemolytica*. *Am. J. Vet. Res.* 46 (12): 2429-2433, 1985.

125. Wessman, G.E., Hilker, G.: Characterization of *Pasteurella haemolytica* isolated from the respiratory tract of cattle. *Can. J. Comp. Med.* 32: 498-504, 1968.

126. Wilkie, B.N., Markham, R.J.F.: Bronchoalveolar washing cells and immunoglobulins of clinically normal calves. *Am. J. Vet. Res.* 42 (2): 241-243, 1981.

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



8.ÖZGEÇMİŞ

1967 yılında Kars İli, Sarıkamış ilçesinde doğdum. İlk ve Orta okul eğitimimi Sarıkamış İlçesinde, Lise Eğitimimi ise Bursa'da tamamladım. 1985 Yılında Atatürk Üniversitesi Kars Veteriner Fakültesine girdim ve 1990 yılında mezun oldum. 1992-1994 yılları arasında Kars İli merkezinde serbest Veteriner Hekim olarak çalıştım. 1994 yılı başında Kafkas Üniversitesi Kars Meslek Yüksekokulu'na Öğretim Görevlisi olarak atandım ve halen adı geçen okulda Müdür Yardımcısı olarak görev yapmaktayım.Evli ve biri 12 yaşında, diğeri 11 aylık iki kız çocuğu babasıyım.