

SIĞIR ve KOYUNLARA AİT PNÖMONİLİ AKCİĞERLERDEN *Pasteurella Haemolytica*'NİN İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU, BİYOTİPLENDİRİLMESİ ve ANTİBİYOTİKLERE OLAN DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ*

Abdurrahman GÜRBÜZ** Mitat ŞAHİN***

Geliş Tarihi: 03.06.2003

Özet: Bu çalışma, pnömonik siğir ve koyun akciğerlerinden *Pasteurella haemolytica* suşlarının izolasyonu, identifikasyonu, biyotiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla yapıldı.

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

Çalışmada pnömonik siğir akciğerlerinden 32 (%26), pnömonik koyun akciğerlerinden 29 (%37.3) olmak üzere toplam 61 adet *P. haemolytica* suşu izole ve identifiye edildi.

Pnömonik siğir akciğerlerinden izole edilen 32 *P. haemolytica* suşunun tamamı biyotip A, pnömonik koyun akciğerlerinden izole edilen 29 *P. haemolytica* suşunun 18 (%62.2)'i biyotip T, 11 (%37.9)'i biyotip A olarak biyotiplendirildi.

Pnömonik siğir ve koyun akciğerlerinden elde edilen toplam 61 *P. haemolytica* suşunun antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon metoduyla belirlendi. Pnömonik siğir akciğerlerinden izole edilen 32 *P. haemolytica* suşunun antibiyogram testinde; suşların tamamının sülfametaksol trimetoprim, danofloksasin, enrofloksasin, gentamisin ve sefuroksim sodyum'a, 28'inin tetrasiklin'e, 27'sinin kanamisin'e, 26'sının penisilin G'ye, 8'inin de oksitetrasiklin'e duyarlılık gösterdiği tespit edildi. Aynı antibiyogramda suşlardan 30'unun ampisillin'e, 29'unun amoksisillin-klavulanik asit'e, 25'inin streptomisin'e, 24'ünün oksitetrasiklin'e, 12'sinin de eritromisin'e dirençli olduğu belirlendi. Pnömonik koyun akciğerlerinden izole edilen 29 *P. haemolytica* suşuna yapılan antibiyogram testinde; tüm suşların sülfametaksol trimetoprim'e, danofloksasin, enrofloksasin, gentamisin ve sefuroksim sodyum'a, 28'inin gentamisin ve penisilin G (10 IU)'ye, 27'sinin streptomisin ve tetrasiklin'e, 26'sının kanamisin'e, 24'ünün ise eritromisin'e, duyarlı olduğu tespit edildi. Aynı testte 29 suşun tamamının ampisillin'e, 24 suşun oksitetrasiklin'e, 23 suşun da amoksisillin-klavulanik asit'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*, siğir, koyun, pnömoni, antibiyotik duyarlılık.

The Isolation of *Pasteurella Haemolytica* from Pneumonic Lungs of Cattle and Sheep and Identification, Biotyping and Determination of the Antibiotic Susceptibility of the Isolates

Summary: This study aimed at investigating isolation, identification and biotyping of *Pasteurella haemolytica* strains isolated from cattle and sheep with pneumonia. In addition, antibiotic susceptibility of the isolates were determined against a member of antimicrobial agents.

A total of 231 pneumonic lung samples (125 from cattle and 106 from sheep) were examined in the present study. Of the cattle samples, examined 101 were obtained from a local state-run slaughterhouse and 24 were from a private slaughterhouse in Kars. All the sheep samples were obtained from 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.

Of the cattle isolates, all were biotyped as biotype A, of the 29 sheep isolates, 18 (%62.2) and 11 (%37.9) were biotyped as biotype T and biotype A respectively.

All *P. haemolytica* strains isolated 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/trimetoprim, danofloxacin, enrofloxacin, gentamicin and cefuroxime sodium. Of these isolates, twenty-eight, 27, 26 and 8 were found susceptible to tetracycline, kanamycin penicillin G and oxytetracycline, respectively. On the other hand, 30, 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/trimetoprim, danofloxacin, enrofloxacin and cefuroxime sodium. In addition, twenty-eight, 28, 27, 26 and 24 isolates were found susceptible to gentamicin and penicillin, streptomycin and tetracycline, kanamycin, erythromycin, respectively. All 29 sheep isolates tested were found resistant to ampicillin. In addition, twenty-nine and 23 isolates were resistant to oxytetracycline, and amoxicillin-clavulanic acid, 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.

* Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

* Kafkas Üniversitesi Kars meslek Yüksekokulu, Kars-TÜRKİYE

** Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

GİRİŞ

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. *Pasteurella* grubu mikroorganizmalar, insanlarda ve hayvanlarda ortaya çıkan birçok pnömonik infeksiyonun primer ya da sekonder etkenidirler¹. Ayrıca memelilerin ve kanatlıların sindirim ve üst solunum yolu mukoz membranlarında fakültatif patojen olarak bulunur ve vücut direncinin kırıldığı durumlarda infeksiyon oluştururlar¹⁻³. *Pasteurella* cinsi içinde *P. multocida* sığırlarda; gastro-enteritis, derialtında ödem, akciğerlerde nekrotik krupöz pnömoni, hemorajik septisemi ve mastitise, koyunlarda; gastro-enteritis ve pnömoniye sebep olmaktadır^{1,4,5}. Evcil ruminantlarda hastalık etkeni olan diğer önemli bir tür de *P. haemolytica*'dır^{4,5}. Bu mikroorganizmanın özellikle koyun pnömonilerinde akciğer lezyonlarına neden olan sitotoksin (leukotoksin), endotoksin, kapsül, nöyroaminidaz gibi birçok virulens faktörleri bulunmaktadır^{1,2,6}. Bu nedenle *P. haemolytica*, koyun ve kuzularda enzootik pnömoni ve septisemiye, sığır ve domuzlarda pnömonik Pasteurellosis'e bu infeksiyonların dışında nadiren de olsa koyun ve sığırlarda mastitise neden olmaktadır^{5,7}. *Pasteurella haemolytica*, 0.3-1.0 µm çapında, 1.2-2.0 µm uzunluğunda sporsuz, kapsüllü, hareketsiz, genellikle pleomorfik, 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^{1,3,8}. *Pasteurella haemolytica*'nın % 7 koyun kanlı agarda dar hemoliz zonu oluşturması diğer *Pasteurella* türlerinden ayırıcı en önemli özelliğidir⁹. Ayrıca *P. haemolytica* suşlarının koloni çaplarının küçük olması, Mac Conkey agarda üreyebilmesi, indol ve üreaz aktivitesinin negatif olması diğer ayırıcı özellikleridir^{2,3,10}.

Pasteurella haemolytica, biyokimyasal ve kültürel özelliklerine göre A ve T olmak üzere iki biyotip'e ayrılmıştır. Biyotiplendirme işlemlerinde karbonhidrat fermentasyonu, koloni morfolojisi, penisiline duyarlılık, metilen mavisi, brillant green, bazik fuksin gibi boyalara duyarlılık ve lektin aglutinasyonu kullanılmaktadır^{1,2,11,12}.

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 bulunmaktadır⁹. Bazı araştırmacılar

son yıllarda yaptıkları çalışmalar sonucunda *P. haemolytica*'yı *Mannheimia haemolytica* olarak adlandırarak, A₁₁'i diğer serotiplerden farklı olarak *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^{13,14}. Bu değişiklik önerileri, çalışma yapılırken henüz sistematikte yer olmadığından, araştırmada bakterinin adı *Pasteurella haemolytica* olarak kullanılmıştır.

Yates¹⁵, yaptığı çalışmalar neticesinde pnömoninin tek bir tip mikroorganizma tarafından oluşturulmasından daha çok, miks bir infeksiyon özelliğinde olduğunu ortaya çıkarmıştır. Koyun ve sığırların solunum yolu infeksiyonlarından birçok virus (*bovine herpes virus 1* (BHV-1), *bovine viral diarrhoea virus* (BVD), *infectious 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 yapılmaktadır¹⁶. Sığır ve koyunların akut pnömoni olgularından bakteriyel etken olarak en çok *Pasteurella* türleri izole edilmektedir^{2,9,17,18}. 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 edilebilmektedir¹⁶. Ülkemizde sığır ve koyun pnömonilerinden etken izolasyonu identifikasyonu, antibiyotik duyarlılıkları, biyotip ve serotiplendirilmesi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır^{17,21}.

Bu araştırmada; Kars yöresindeki sığır ve koyunlara ait pnömonili akciğerlerden *P. haemolytica*'nın izolasyonu, identifikasyonu, biyotiplendirilmesi ve antibiyotiklere olan duyarlılıkları belirlenerek, ileriki zamanlarda yapılacak epidemiyolojik çalışmalara temel oluşturmak amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırma materyali: Kars Belediye Mezbahanesi ile Özel Et ve Tavuk Kombinasında kesilen 1 yaş üzeri toplam 838 adet sığır ve Kars Belediye Mezbahanesinde kesilen 1 yaş üzeri 241 adet koyuna ait akciğer, pnömoni açısından makroskobik olarak incelendi. Makroskobik inceleme sonucu pnömoni tespit edilen 125'i sığır, 106'sı koyun olmak üzere toplam 231 adet akciğer, *Pasteurella haemolytica* izolasyonu amacıyla araştırma materyalini oluşturdu.

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

Besiyerleri: Pnömonik akciğerlerden izolasyon amacıyla kanlı agar (%7 defibrine koyun kanlı, Blood Agar Base-Oxoid), identifikasyon amacıyla Mac Conkey Agar (Oxoid), Bromcreosol Purple Broth, indol test ortamı, Brain Heart Infusion Broth (Oxoid), antibiyotik duyarlılıklarının tespitinde, Trypton Soy Broth ve Müller Hinton Agar (Oxoid) kullanıldı.

Antibiyotik diskleri: Pnömonik sığır ve koyun 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 trimethoprim (25µg), eritromisin (15µg), sefuroksim sodyum (30µg), streptomisin (10µg), tetrasiklin (10µg), penisilin G (10 IU), kanamisin (30µg) (Oxoid), enrofloksasin (5µg) ve danofloksasin (5µg) diskleri (Difco) kullanıldı.

Ekim ve izolasyon çalışmaları: 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 incelendi. Gram negatif ve bipolar boyanan basil veya kokobasiller *Pasteurella* spp şüpheli olarak kabul edildi. Daha sonra pnömonik akciğer örneklerinden hazırlanan homojenatlardan % 7 koyun kanlı agarlara ekimler yapılarak, 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. inkübasyon süresinin bitiminde kanlı agarda üreyen 1-2 mm çapında beyaz S tipi ve hemolitik kolonilerden preparatlar hazırlanarak Gram boyama yöntemi ile tekrar boyandı ve mikroskopta incelendi. izolasyon işlemlerinin sonunda *Pasteurella* spp. şüpheli kolonilerden 2-3 tane alınarak identifikasyon amacıyla BHIB (Brain Heart Infusion Broth)'a geçildi ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi^{2,3,8}.

İdentifikasyon çalışmaları: İnkübasyon sonunda BHIB' da üreyen *Pasteurella* spp. şüpheli kolonilerden % 7 koyun kanlı agara ekimler yapılarak 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. inkübasyon neticesinde üreyen

koloniler oksidaz, katalaz, indol oluşumu, hemoliz ve Mac Conkey agarda üreme özelliklerine göre identifiye edildi^{22,24}.

***Pasteurella haemolytica* suşlarının biyotiplendirilmesi**

Koloni formasyonuna göre biyotiplendirme: *Pasteurella haemolytica* olarak identifiye edilen tüm suşlar, koyun kanlı agarda 37 °C' de 24 saat inkübe edildi. inkübasyon sonucunda suşların oluşturdukları koloniler renk, büyüklük, düzgünlük ve koloni merkezlerinin rengi yönünden ayrı ayrı incelendi².

Karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirme: Bu amaçla tındalizasyon 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. Biyotiplendirilmesi yapılacak *P. haemolytica* suşları TSB'ye ekildi ve 37 °C'de 2 saat inkübe edildi. Daha sonra her suşun TSB'deki kültüründen steril pipetler yardımı ile 0,1 ml alınarak 4 ayrı şekere (her şekerden 1'er tane kontrol olarak ayrıldıktan sonra) ekimleri yapıldı ve kontrol grubu ile birlikte 37 °C'de 14 gün süreyle inkübe edildi. inkübasyon 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 biyotiplendirildi².

***Pasteurella haemolytica* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının tespiti:** *Pasteurella haemolytica* olarak identifiye edilen suşların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla Müller-Hinton agarda disk difüzyon metodu kullanıldı³.

BULGULAR

Pasteurella haemolytica'nın izolasyonu ve identifikasyonu: Kars Belediye Mezbahanesinden temin edilen toplam 101 adet pnömonik sığır akciğer örneğinin 56 (%55.4)'sından, Özel Et ve Tavuk Kombinasından temin edilen 24 adet pnömonik sığır akciğerinin 15 (%62.5)'inden olmak üzere toplam 71 (%56.8) pnömonik sığır akciğer örneğinden bakteriyel etken izole edilirken, 54 (%43.2) pnömonik sığır akciğer örneğinden etken izolasyonu yapılamadı. Çalışma süresince Kars Belediye Mezbahanesinden temin edilen ve bak-

teriyel etken izolasyonu yapılan 56 adet örnekten 26 (%46.4), Özel Et ve Tavuk Kombinasyonundan alınan ve bakteriyel etken izolasyonu yapılan 15 örnekten 6 (%40) adet olmak üzere, 71 adet pnömonik akciğer örneğinden toplam 32 (%45) adet *P. haemolytica* izole identifiye edildi.

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 pnömonik akciğer örneğinden toplam 29 (%27.3) adet *P. haemolytica* izole ve identifiye edildi (Tablo. 1). Pnömonik sığır akciğerlerinden izole edilen toplam 32 *P. haemolytica* suşunun 8'i saf, 24'ü diğer bakteri türleri ile birlikte, 29 koyun suşunun 4'ü saf, 25'i diğer bakteriler ile birlikte izole edildi.

Tablo 1. Pnömonik sığır ve koyun akciğerlerinden bakteriyel etken izolasyonu ve *P. haemolytica* identifikasyonunun kaynaklara göre dağılımı.

Table 1. Isolation of bacterial agents from sheep and cattle lungs with pneumonia, and the distribution of *P. haemolytica* according to sources of Material.

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	56 (55.4)	15 (62.5)	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)

Ö.S: Örnek sayısı.

K.B.M: Kras Belediye mezbahanesi

Ö.E.T.K: Özel Et ve Tavuk kombinasyonu

***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 sonuçları pozitif, indol reaksiyonları negatif olarak belirlendi. Ayrıca suşların tamamının Mac Conkey agarda 48-72 saatlik inkübasyon sonucu S tipi koloni tarzında ürettiği tespit edildi.

***Pasteurella haemolytica* suşlarının biyotiplendirilmesi**

Koloni formasyonuna göre biyotiplendirme: Pnömonik sığır akciğerlerinden izole edilen 32 suşun tamamının, % 7 koyun kanlı agarda A biyotipine özgün 2 mm çapında, düzgün kenarlı, açık gri renkli koloniler oluşturduğu gözlemlendi.

Pnömonik koyun akciğerlerinden izole edilen 29 *P. haemolytica* suşunun 18'i koyun kanlı agarda T biyoti-

pine özgün, yaklaşık 2-3 mm çapında, kenarları düzgün, ortaları koyu renkli, S tipi gri koloniler oluştururken, 11'i A biyotipine özgün, 2 mm çapında, kenarları düzgün, açık gri renkli koloniler oluşturdu.

Karbonhidrat fermentasyonlarına göre biyotiplendirme: Pnömonik sığır akciğerlerinden izole edilen 32 *P. haemolytica* suşunun 23 (%71.8) 'ü arabinozu, 26 (%81.8)'sı ksilozu, 6 (%18.7)'sı salisini fermente ederken, suşlardan hiçbirisi trehalozu fermente etmedi. Ksiloz, arabinoz ve trehaloz test sonuçlarına dayanılarak tüm sığır suşlarının A biyotipi olduğu belirlendi (Tablo 2).

Pnömonik koyun akciğerlerinden izole edilen 29 *P. haemolytica* suşunun 10 (%34.4)'unun arabinozu, 8 (%27.5)'inin ksilozu, 7 (%24.1)'sinin salisini, 18 (%62.2)'inin de trehalozu fermente ettiği tespit edildi (Tablo. 2). Karbonhidrat fermentasyon test sonuçlarına göre suşlardan 11'inin (%37.9) biyotip A, 18'inin (%62.1) biyotip T olduğu belirlendi (Tablo 2).

Tablo 2. Sığır ve koyunlara ait pnömonik akciğerlerinden izole edilen *P. haemolytica* suşlarının karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirilmesi.

Table 2. Biotyping of *P. haemolytica* isolates of cattle and sheep with pneumonia based on carbohydrate fermentation.

karbonhidratlar	Sığır (n: 32)			
	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
karbonhidratlar	Koyun (n: 29)			
	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

Antibiyotik duyarlılık testi: Pnömonik sığır akciğerlerinden izole edilen 32 adet *P. haemolytica* suşuna yapılan antibiyogram testinde; tüm suşların sülfametaksol trimetoprim, danofloksasin, enrofloksasin, gentamisin ve sefuroksim sodyum'a duyarlı, 28 suşun tetrasiklin'e, 27 suşun kanamisin'e, 26 suşun penisilin G'ye, 20 suşun eritromisin'e, 8 suşun oksitetrasiklin'e, 7 suşun streptomisin'e 3 suşun amoksisillin-klavulanik asit'e, 2 suşun da ampisillin'e, duyarlılık gösterdiği tespit edildi. Aynı antibiyogramda suşlardan 30'unun ampisillin'e, 29'unun amoksisillin-klavulanik asit'e, 25'inin streptomisin'e, 24'ünün oksitetrasiklin'e, 12'sinin eritromisin'e, 6'sının penisilin G'ye, 5'inin kanamisin'e, 4'ünün ise tetrasiklin'e dirençli olduğu belirlendi (Tablo 3).

Pnömonik koyun akciğerlerinden izole ve identifiye edilen 29 suşa yapılan antibiyogram testinde; suşların tamamının sülfametaksol trimethoprim, danofloksasin, enrofloksasin ve sefuroksim sodyum'a, 28'inin gentamisin ve penisilin G'ye, 27'sinin streptomisin ve tetrasiklin'e, 26'sının kanamisin'e, 24'ünün eritromisin'e, 6'sının amoksisillin-klavulanik asit'e, 5'inin de oksitetrasiklin'e duyarlılık gösterdiği tespit edildi. Aynı testte tüm suşların ampisillin'e, 24'ünün oksitetrasiklin'e, 23'ünün amoksisillin-klavulanik asit'e, 5'inin eritromisin'e, 3'ünün kanamisin'e, 2'sinin streptomisin ve tetrasiklin'e, 1'inin penisilin G ve gentamisin'e direnç gösterdiği saptandı (Tablo.3).

Tablo 3. *Pasteurella haemolytica* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılıkları

Table 3. Antibiotic susceptibilities of *P. haemolytica* isolates.

Kullanılan antibiyotik distleri	Sığır (n: 32)				Koyun (n: 29)			
	Duyarlı (n)	84.3	Dirençli (n)	%	Duyarlı (n)	84.3	Dirençli (n)	%
Ampisilin (10µg)	2	6.4	30	93.6	0	0	29	100
Sülfametaksol trimethoprim(25µg)	32	100	0	0	29	100	0	0
Amoksisilin-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

TARTIŞMA ve SONUÇ

Sığır ve koyun yetiştiriciliği yönünden oldukça ileri seviyede olan Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde solunum yolu infeksiyonları, büyük oranda verim düşüklüğüne bağlı ekonomik kayıplara yol açmaktadır^{18,23}. Sığır ve koyun pnömonilerinin ortaya çıkışında hayvan nakilleri, ani iklim değişiklikleri, açlık ve stres gibi faktörlerin yanı sıra, bakteriyel ve viral ajanların da rol oynadığı vurgulanmaktadır⁶.

Çeşitli araştırmacılar koyun pnömonilerinin etiolojisinde birçok bakteriyel ve viral ajanın birlikte rol oynadığını, ancak ölümlere sebep olan patolojik lezyonların oluşmasında primer etken olarak *P. haemolytica*'yı sorumlu tutmaktadırlar^{17,23,25,26}. Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de koyun ve sığır pnömonilerinden *P. haemolytica* izolasyonları yapılmaktadır^{17,27-29}. Blanco-Viera ve ark.²⁷, 224 sığır pnömonik akciğerlerinden 40, Gündüz¹⁸, 325 pnömonik sığır akciğerlerinden 42 *P. haemolytica* suşu izole etmişlerdir. Şahin²⁹, Kars yöresi sığırlarına ait 109 pnömonik akciğerin 43 (%39.44)'ünden 11 (%10.09) adet *P. haemolytica* suşu izole ettiğini bildirmektedir. Bakke³⁰, Güney Norveç'te 126 pnömonik koyun akciğerlerinden 47(%37.3) adet, Hazıroğlu ve ark.²¹, 500 kuzu pnömonik akciğerlerinden 258 (%51.6) adet, Otlı²⁸, Kars yöresi koyunlarına ait 247 pnömonik akciğerden 56 (%22.7) adet *P. haemolytica* suşu izole ettiklerini rapor etmektedirler.

Bu araştırmada Kars Belediye Mezbahanesinden alınan 101 adet pnömonik sığır akciğerinin 56 (%55.4)'sından 26 (%25.7) adet, Özel Et ve Tavuk Kombina'sından 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 1). Aynı araştırmada Kars Belediye Mezbahanesinden temin edilen 106 pnömonik koyun akciğerinin 92 (%86.8)'sinden 29 (%27.3) adet *P. haemolytica* suşu izole edildi (Tablo 1).

Bu araştırmadaki pnömonik sığır akciğerlerinden *P. haemolytica* izolasyon oranı; Şahin²⁹ ve Blanco-Viera²⁷'nin izolasyon oranlarına yakın, Gündüz¹⁸'ün izolasyon oranlarından ise yüksek bulunmuştur. Pnömonik koyun akciğerlerinden *P. haemolytica* izolasyon oranı ise; Hazıroğlu ve ark.²¹ ile Bakke³⁰'nin oranlarından düşük, Otlı²⁸'nin oranlarına ise yakın bulunmuştur. İzolasyon oranlarındaki farklılıkların, barınma şartları, iklim değişiklikleri, hayvan nakilleri, yaş ve ırk farklılıklarının yanı sıra diğer stres faktörlerinin etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Yapılan araştırmada pnömonik sığır akciğerlerden izole edilen 32, pnömonik koyun akciğerlerden izole edilen 29 adet olmak üzere toplam 61 adet *P. haemolytica* suşunun tamamının koyun kanlı agarda hemoliz oluşturduğu, katalaz ve oksidaz aktiviteleri pozitif, indol reaksiyonlarının negatif olduğu tespit edildi. Ayrıca tüm suşların Mac Conkey agarda 48-72 saatlik inkübasyon süresi sonunda S koloni tipinde üreme gösterdiği tespit edildi. Bu araştırmadaki *P. haemolytica* suşlarının identifikasyon bulguları ile bir-

çok araştırmacının identifikasyon bulguları ile önemli derecede benzerlikler göstermektedir^{3,4,18}.

Pasteurella haemolytica suşlarının karbonhidrat fermentasyonuna göre biyotiplendirilmesinde; A biyotiplerinin arabinoz ve ksilozu, T biyotiplerinin ise trehaloz ve salisini fermente etme özelliklerinden yararlanılmaktadır^{2,11,19}. Wessman ve Hilker³¹, sığır pnömonik akciğerlerinden izole ettikleri 43, Gündüz¹⁸, 48 *P. haemolytica* suşunun tamamını biyotip A olarak belirlediklerini bildirmektedirler. Pegram³², koyun ve keçilere ait 24 *P. haemolytica* suşunun tamamını biyotip A, Kaya ve Kırkan²³, pnömonik koyunlardan izole ettikleri 48 *P. haemolytica* suşunun 35 (%72.9)'ünü biyotip T, 13 (%27.1)'ünü biyotip A olarak biyotiplendirdiklerini bildirmektedirler.

Araştırmada sığırlardan izole edilen toplam 32 adet *P. haemolytica* suşunun karbonhidrat fermentasyon test sonuçlarına göre tamamı biyotip A, koyunlara ait 29 adet *P. haemolytica* suşunun 18 (%62.1)'i biyotip T, 11 (%37.9)'i biyotip A olarak biyotiplendirildi (Tablo 2).

Araştırma bulgularına göre sığır ve koyunlardan izole edilen *P. haemolytica* suşlarının biyotiplendirilmesinde, A biyotiplerinin ksilozu arabinoza göre daha fazla fermente etmesi sonucu, ksiloz fermentasyonunun daha güvenilir olabileceği kanaatine varıldı.

Sığır suşlarının tamamının A biyotipi olarak biyotiplendirilmesi Gündüz¹⁸ ile, Wessman ve Hilker³¹'in sonuçları ile benzerliğinin yanı sıra, yörede infeksiyona neden olan biyotipler içerisinde A biyotipinin dominant rol oynadığını da göstermektedir. Araştırmada koyun suşlarına ait biyotiplendirme bulguları Kaya ve Kırkan²³'ün bulgularıyla paralellik, T biyotiplerinin A biyotiplerine oranla daha fazla olması nedeniyle de diğer araştırmacıların^{2,17,27,32} bulgularından farklılıklar göstermektedir.

Birçok araştırmacı pnömonik sığır ve koyun akciğerlerinden izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek amacıyla çeşitli çalışmalar yapmışlardır. Gündüz¹⁸, sığırlara ait 48 *P. haemolytica* suşunun tamamını danofloksasin ve enrofloksasin'e karşı duyarlı bulmuştur.

Allan ve ark.³³, sığırlardan izole ettikleri toplam 127 *P. haemolytica* suşundan 121'ini streptomisin'e dirençli, 125'ini ise sülfametaksol trimetoprim'e duyarlı bulduklarını bildirmektedirler. Diker ve ark.³⁴, pnömo-

nik koyun akciğerlerinden izole ettikleri *P. haemolytica* suşlarının tamamını kloramfenikol ve linkomisin'e dirençli, penisilin, ampicillin, oksitetrasiklin, eritromisin ve streptomisin'e karşı duyarlı bulduklarını bildirmektedirler.

Bu çalışmada sığır pnömonik akciğerlerinden izole edilen 32 adet *P. haemolytica* suşunun tamamı sülfametaksol trimetoprim, danofloksasin, enrofloksasin, gentamisin ve sefuroksim sodyum'a, suşların %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 belirlendi (Tablo 3). Aynı araştırmada sığır izolatlarının %93.8'inin ampicillin'e, %91'inin amoksisillin-klavulanik asit'e, %87.5'nin oksitetrasiklin'e, %78'inin streptomisin'e, %37.5'nin ise eritromisin'e dirençli olduğu tespit edildi (Tablo 3).

Araştırmada pnömonik koyun akciğerlerinden izole edilen 29 suşun tamamı sülfametaksol trimetoprim'e, danofloksasin'e, enrofloksasin ve sefuroksim sodyum'a, suşların %96.5'nin gentamisin ve penisilin G (10 IU)'ye, %93.3'ünün streptomisin ve tetrasiklin'e, %89.5'nin kanamisin'e, %83'ünün ise eritromisin'e, duyarlılık gösterdiği belirlendi. Aynı araştırmada 29 suşun tamamının ampicillin'e, %83'ünün oksitetrasiklin'e, %82.4'ünün amoksisillin-klavulanik asit'e, %17'sinin eritromisin'e, %10.5'nin kanamisin'e, %6.7'sinin streptomisin ve tetrasiklin'e, %3.5'nin penisilin G (10 IU) ve gentamisin'e direnç gösterdiği tespit edildi (Tablo 3).

Sığır ve koyunlardan izole edilen *P. haemolytica* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının tespitinden elde edilen sonuçlar, ampicillin ve amoksisillin dışındaki diğer antibiyotiklere karşı yörede yaygın bir dirençlilik 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 yeni çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Aydın N: Pasteurellaceae familyası. 64-74. İçinde: Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS, Özel Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar. Medisan Yayın serisi, No:26, 4. Baskı, Ankara, 1997.

- 2 **Biberstein EL:** Biotyping and serotyping of *Pasteurella haemolytica*. 253-267. In: Bergen T and Noris RJ (Eds.) *Methods in Microbiology*. Academic Press. Inc. New York, 1978.
- 3 **Bilgehan H:** Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteriye enfeksiyonlar. Fakülteler kitabevi, Barış yayınlan İzmir, 1987.
- 4 **Carter GR, Chengappa MM:** Haemorrhagic septicaemia. 131-160. In: Adlam C and Rutter JM (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press, Inc. New York, 1989.
- 5 **Radostits OM, Blood DC, Gay CC:** Veterinary medicine. A textbook of the disease of cattle, sheep, pigs, goats and horses. Bailliere Tindall, London 1994.
- 6 **Frank GH:** The role of *Pasteurella haemolytica* in the bovine respiratory disease complex. *Vet Med*, 12: 841-846, 1986.
- 7 **Gilmour NJL, Gilmour JS:** Pasteurellosis of sheep: *Pasteurella* and Pasteurellosis. 223-262. In: Adlam C and Rutter JM (Eds.) *Academic Press*, Inc. New York, 1989.
- 8 **Mutter R, Mannheim W, Bisgaard M:** Taxonomy of the group. 3-34. In: Adlam C and Rutter JM (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press Inc. New York, 1989.
- 9 **Biberstein EL, Gills MG, Knight H:** Serological types of *Pasteurella haemolytica*. *Cornell Vet*, 50: 283-300, 1960.
- 10 **Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR:** Clinical Veterinary Microbiology. Mosby-Year Book, Europe Limited, 254-258, Dublin, 1994.
- 11 **Biberstein EL, Gills MG:** The relation of the antigenic types to the A and T types of *Pasteurella haemolytica*. *J Com Path*, 72: 316-320, 1962.
- 12 **Craft DL, Chengappa MM, Carter GR:** Differentiation of *Pasteurella haemolytica* biyotipes A and T with lectins. *Vet Rec*, 120(18): 393, 1987.
- 13 **Ackermann MR, Brodgen KA:** Response of the ruminant respiratory tract to Mannheimia (pasteurella) haemolytica. *Microbes Infect*, 2(9): 1079-1088, 2000.
- 14 **Mevius DJ, Hartman EG:** In vitro activity of 12 antibiotics used in veterinary medicine against Mannheimia (pasteurella) haemolytica and *Pasteurella multocida* isolated from calves in the Netherlands. *Tijdschr Diergeneeskd*, 125(5): 147-152, 2000.
- 15 **Yates WDG:** 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.
- 16 **Collier JR:** Significans of bacteria in bovine respiratory disease. *JAVMA*, 153(12): 1645-1651, 1968.
- 17 **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.
- 18 **Gündüz K:** Pnömonili sığır akciğerlerinden izole edilen *Pasteurella haemolytica* suşlarının biyotiplendirilmesi, serotiplendirilmesi. Doktora tezi, Selçuk Üniv Sağlık Bilimleri Enstitüsü Konya, 1997.
- 19 **Fodor L, Varga J, Hajtos L, Szemerédi GY:** Serotypes of *Pasteurella haemolytica* isolated from sheep, goats and calves. *Zbl Vet Med*, 31: 466-469, 1984.
- 20 **Frank GH:** Serotypes of *Pasteurella haemolytica* in sheep in the midwestern United States. *Am J Vet*, 43(11): 2035-2037, 1982.
- 21 **Hazaroğlu R, Diker KS, Gülbahar MY, Akan M, Güvenç T:** Studies of pathology and microbiology of pneumonic lungs of lambs. *Dtsch Tierarztl Wschr*, 101: 441-443, 1994.
- 22 **Carter GR:** Genus I *Pasteurella*. 552-558. In: Krieg, N.R. and Holt JG (Eds.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol I Williams and Wilkins. Baltimore, 1984.
- 23 **Kaya O, Kırcan 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.
- 24 **Frank GH:** Pasteurellosis of cattle. 197-222. In: Adlam C and Rutter JM (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*. Academic Press Inc. New York, 1989.
- 25 **Kırcan MM:** Konya bölgesi kuzu pnömonilerinde patolojik ve etiyolojik araştırmalar. Doktora tezi, Selçuk Üniv Sağlık Bilimleri Enstitüsü Konya, 1990.
- 26 **Özer H, Gülcü HB:** Kuzu ve oğlakların enzootik pnömonileri ile ilgili gözlemler. *Selçuk Üniv Vet Fak Derg*, 2:135-141, 1986.
- 27 **Blanco-Viera FJ, Trigo FJ, 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.
- 28 **Otlı S:** Kars yöresinde koyun pnömonilerinden Mikoplazma'ların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere olan duyarlılıklarının belirlenmesi. *Etlik Vet Mikrobiol Derg*, 9(1): 157-174, 1997.
- 29 **Şahin M:** Kars yöresinde sığır pnömonilerinden Mikoplazmaların izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi. *Etlik Vet Mikrobiol Derg*, 9(2): 71-89, 1997.
- 30 **Bakke T:** The occurrence of Mycoplasma and bacteria in lungs from sheep in Southern Norway. *Acta Vet Scand*, 23: 235-247, 1982.
- 31 **Wessman GE, Hilker G:** Characterization of *Pasteurella haemolytica* isolated from the respiratory tract of cattle. *Can J Comp Med*, 32: 498-504, 1968.
- 32 **Pegram RG:** Serological types of *Pasteurella haemolytica* isolated from sheep and goats in the Somali Democratic Republic. *Trop Animal Hlth Prod*, 6:189-191, 1974.
- 33 **Allan EM, Wiseman A, Gibbs HA, Selman IE:** *Pasteurella* species isolated from the bovine respiratory tract and their antimicrobial sensitivity patterns. *Vet Rec*, 117: 629-631, 1985.
- 34 **Diker KS, Akan M, Hazaroğlu R:** Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic ovine lungs. *Vet Rec*, 134: 597-598, 1994.

Yazışma adresi (correspondence address)

Dr. Abdurrahmar GÜRBÜZ
Kafkas Üniversitesi Kars Meslek Yüksekokulu 36040-KARS
Tlf: +90 474 2123623
Fax: +90 474 2239957
E-mail: abdrgrubuz@hotmail.com