

**KÜTAHYA İLİNDEKİ MEZBAHALARDA
KESİLEN SIĞIRLARDA *PASTEURELLA* spp.
İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONU İLE
ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ TESPİT
EDİLMESİ**

Veteriner Hekim Seydi Mehmet ARSLAN

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Beytullah KENAR

Tez No: 2021-007
Afyonkarahisar

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KÜTAHYA İLİNDEKİ MEZBAHALARDA KESİLEN
SIĞIRLARDA *PASTEURELLA* spp. İZOLASYONU VE
İDENTİFİKASYONU İLE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARININ TESPİT EDİLMESİ**

Veteriner Hekim Seydi Mehmet ARSLAN

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Beytullah KENAR**

TEZ NO: 2021-007

AFYONKARAHİSAR

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda** Seydi Mehmet ARSLAN tarafından hazırlanan “ Kütahya İlindeki Mezbahalarda Kesilen Sığırlarda *Pasteurella* spp. İzolasyonu ve İdentifikasyonu ile Antibiyotik Duyarlılıklarının Tespit Edilmesi ” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 27/01/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Esra ŞEKER

İmza

Üye

Prof. Dr. Beytullah KENAR

İmza

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Merih ŞİMŞEK

İmza

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... / / tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.
Prof. Dr. Esmâ KOZAN
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

07/02/2021

İmza

Seydi Mehmet ARSLAN

ÖZET

Kütahya İlindeki Mezbahalarda Kesilen Sığırlarda *Pasteurella* spp. İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Tespit Edilmesi

Yapılan bu tez çalışmasında Sığır pnömonilerine sebep olan en önemli bakteriyel etkenlerden biri olan *Pasteurella* türlerini izole ve tanımlayarak tedavi için en doğru yaklaşım olarak antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek amaçlanmıştır. Bu sebeple Kütahya ilindeki mezbahalarda kesilen sığırlardan 210 akciğer örneği alındı.

Elde edilen örneklerden yapılan Gram boyama ile 89 (%42) Gram negatif bakteri izole edildi. Bu bakteriler çeşitli biyokimyasal testlere tabi tutuldu. *Pasteurella* türlerinin özelliklerini gösteren 17 örnek otomatize Vitek 2 cihazında tanımlandı. İdentifikasyon sonucu 2 (%0,95) suşun *Pasteurella multocida* olduğu tespit edildi.

Yapılan çalışmalar sonucunda izole ve tanımlanan 2 (%0,95) adet *P. multocida* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları tespit edildi. *P. multocida* suşlarının amoksisilin klavulanik asit, enrofloksasin, siprofloksasin ve seftiofura %100 oranında duyarlı, danofloksasin'e ise %50 duyarlı %50 artırılmış dozajda duyarlı olduğu gözlemlenirken, sülfametaksazol-trimetoprim ve tetrasikline %100 oranında dirençli olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Sığır, *Pasteurella*, Antibiyotik Duyarlılık

SUMMARY

***Pasteurella* spp. In Cattle Slaughtered in Slaughterhouses in Kütahya Province Determination of Isolation, Identification and Antibiotic Sensitivity**

In this thesis study, it was aimed to isolate and identify *Pasteurella* species, one of the most important bacterial agents that cause bovine pneumonia, and to determine the antibiotic sensitivity as the most accurate approach in treatment. For this reason, 210 lung samples were taken from cattle slaughtered in slaughterhouses in Kütahya province.

89 (42%) Gram negative bacteria were isolated by Gram staining from the samples obtained. These bacteria were subjected to various biochemical tests. Identification of 17 samples showing the characteristics of *Pasteurella* species was performed on an automated Vitek 2 device. As a result of the identification, 2 (0.95%) strains were found to be *Pasteurella multocida*.

Antibiotic susceptibilities of 2 (0.95%) *P. multocida* strains isolated and identified were determined as a result of the studies. It was observed that *P. multocida* strains were 100% sensitive to amoxicillin clavulanic acid, enrofloxacin, ciprofloxacin and cefthiofura, and 50% sensitive to danofloxacin at 50% increased dosage, while 100% resistant to sulfamethaxazole-trimethoprim and tetracycline.

Key words: Cattle, *Pasteurella*, Antibiotic Susceptibility

ÖNSÖZ

Pasteurella enfeksiyonları gerek ülkemizde gerek dünyada ekonomik olarak büyük bir öneme sahiptir. Hastalığın ortaya çıkışında bakteri, virüs ve parazit gibi etiyolojik ajanlar ile beslenme noksanlığı, iklimsel değişiklik, olumsuz barınak şartları, nakil gibi çeşitli çevresel etkenlerde bulunmaktadır.

Pasteurollozis, hem dünyada birçok ülkede görülmekte hem de konakçı çeşitliliği çok geniştir. Solunum yolu enfeksiyonlarında *Pasteurella* türlerinin yaygın şekilde izole edildiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Tez konumun belirlenmesinde ve yürütülmesindeki katkılarından dolayı danışman hocam Prof. Dr. Beytullah KENAR'a ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Esra ŞEKER'e, bilgi ve tecrübesiyle destek olan Bayat Meslek Yüksek Okulu Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Selahattin KONAK'a, çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Oğuz Kağan TÜREDİ'ye ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzman Biyoloğu Zahide KÖSE'ye, çalışmalarımda yardımcı olan kuzenim Uzman Veteriner Hekim Gizem YAYLAGÜLÜ BÜYÜKBAKİ'ye, moral ve desteklerini esirgemeyen annem, babam, kardeşime ve her zaman yanımda olan eşim Ceren ALTUNER ARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Seydi Mehmet ARSLAN

Afyonkarahisar

2021

İÇİNDEKİLER

SAYFA

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ	iii
ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖNSÖZ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Pasteurella</i> Türlerine Genel Bakış	1
1.1.1. Tanım	1
1.1.2. <i>Pasteurella</i> Türlerinin Tarihçesi	2
1.1.3. <i>Pasteurella</i> Türlerinin Genel Özellikleri	4
1.1.4. <i>Pasteurella</i> Türlerinin Virulens Faktörleri	5
1.1.5. <i>Pasteurella</i> Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi.....	8
1.1.6. <i>Pasteurella</i> Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonlar Ve Klinik Bulgular	9
1.1.7. <i>Pasteurella</i> Enfeksiyonlarının Patogenezisi	12
1.1.8. <i>Pasteurella</i> Enfeksiyonlarının Teşhisi.....	13
1.1.9. <i>Pasteurella</i> Enfeksiyonlarında Sağaltım.....	17
1.1.10. <i>Pasteurella</i> Enfeksiyonlarında Korunma.....	19
2. GEREÇ VE YÖNTEM	20
2.1. Gereç.....	20

2.1.1.	Örneklerin Toplanması.....	20
2.1.2.	Antibiyotik Diskleri	21
2.1.3.	Besiyerleri Ve Solusyonlar.....	21
2.1.4.	Otomatize Sistemler.....	24
2.2.	Yöntem.....	25
2.2.1.	İzolasyon Ve İdentifikasyon	25
2.2.1.1.	Eosin Methylene Blue Agarda Üreme	26
2.2.1.2.	MacConkey Agarda Üreme	26
2.2.1.3.	Gram Boyama	26
2.2.1.4.	Oksidaz Testi	26
2.2.1.5.	Lamda Katalaz Testi	27
2.2.1.6.	Vitek 2 Sistemi İle İdentifikasyon	27
2.2.2.	Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	28
3.	BULGULAR	29
3.1.	İzolasyon Ve İdentifikasyon Bulguları	29
3.2.	<i>P. multocida</i> Suşlarının Biyokimyasal Özellikleri.....	30
3.3.	Vitek İdentifikasyon Bulguları	33
3.4.	<i>P. multocida</i> Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları.....	34
4.	TARTIŞMA	36
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
6.	KAYNAKLAR	42
	ÖZGEÇMİŞ.....	58

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- API:** Analitik Profil İndeks
- CLSI:** Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical Laboratory Standards Institute)
- DNA:** Deoksiribonükleik Asit
- EUCAST:** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Avrupa Birliği Antimikrobiyal Duyarlılık Test Komitesi)
- FAO:** Gıda ve Tarım Organizasyonu (Food and Agriculture Organisation)
- FTS:** Fizyolojik Tuzlu Su
- H₂O₂:** Hidrojen Peroksit
- kDa:** Kilodalton
- ml:** Mililitre
- MR:** Metil Red
- NaCl:** Sodyum Klorür
- OIE:** Uluslararası Salgınlar Ofisi (Office International des Epizooties)
- OMP:** Dış Membran Protein (Outer membrane Protein)
- PZR:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu
- VP:** Voges Prouskauer

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1 Sığırların tedavisinde kullanılan antibiyotikler ve özellikleri	18
Çizelge 2.1 Alınan örneklerin yaşa ve cinsiyete göre dağılımı	21
Çizelge 3.1 Sığır akciğeri örneklerinden <i>P. multocida</i> identifikasyonu	29
Çizelge 3.2 İdentifiye edilen <i>P. multocida</i> biyokimyasal özellikleri	31
Çizelge 3.3 İzole edilen <i>P. multocida</i> suşlarının antibiyotik duyarlılıkları	35
Çizelge 4.1 <i>P. multocida</i> 'nın antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla yapılan bazı çalışmalar	40

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 2.1. Steril numune kaplarında akciğer doku örnekleri	20
Resim 2.2 Otomatize Vitek 2 sistemi	24
Resim 2.3 Doku örneklerinden ekim yapılmış bir kanlı agar örneği	25
Resim 2.4 Vitek 2 cihazı Gram negatif identifikasyon kiti	27
Resim 3.1 Ekim yapılmış petripler	30
Resim 3.2 Oksidaz test striptinde pozitif sonuç	31
Resim 3.3a Mikroskopta Gram negatif kokoid çomaklar	31
Resim 3.3b Mikroskopta Gram negatif kokoid çomaklar	32
Resim 3.3c Mikroskopta Gram negatif kokoid çomaklar	32
Resim 3.4 Vitek 2 sistemi ile identifikasyon sonucu	33
Resim 3.5 Disk difüzyon yöntemi ile Antibiyotik duyarlılıkların tespit edilmesi	34
Resim 4.1 2012-2017 yılları arasında sığırlardan elde edilen <i>P.multocida</i> izolatlarında antibiyotik direnç eğilimleri	39

1.GİRİŞ

1.1. *Pasteurella* Türlerine Genel Bakış

1.1.1. Tanım

Pasteurella kavramı, Louis Pasteur tarafından tavuklardaki kolera hastağına neden olan etmenler üzerine çalışmalar referans alınarak ortaya çıkmıştır. Pasteur kanatlı hayvanlarda koleraya karşı bağışıklık kazanımı ile sonuçlanan bu çalışmalarında yinelenen pasajlar yöntemiyle hastalığa sebep olan etkenin attenuasyonunu sağlamıştır (Mutter vd., 1989; Kubatzky, 2012).

Pasteurella multocida ise süt ve besi hayvanlarından sığırların solunum sistemleri üzerinde çoğunlukla izole edilen, plöropnömoni ve bronkopnömoniyeye sebep olan bir etkendir. Ayrıca bu etken birçok stres kaynaklı şartlarda ve özellikle Shipping fever (pasterelloz)' ın oluşmasında başlatıcı sebeplerdendir. Bunun yanında Pnömonik pastörelloz hastağında çoğunlukla Serogrup A'nın izole durumda bırakıldığı belirtilmiştir (Okay vd., 2011). *P. multocida* sığırların solunum yolları enfeksiyonlarında görülmekle birlikte, sığır ve mandalarda septisemik pasteurelloz oluşumunun en önemli etkenlerinden olan ve hemorajik septisemiye sebep olan bir etkendir. *P. multocida* ilk olarak tarihte 1880' lerde Malezya'da ortaya çıkmıştır (Bain vd., 1982). Genellikle yabancı hayvanlarda çoğunlukla Serotip B:2 ve B:5 görülmekle birlikte, serotipler Asya kıtasında B:2 ve Afrika kıtasında ise E:2 şeklinde gözlemlenmektedir. Hastalığın perakut şeklinde seyretmesi ve hızlı ölümlere yol açması nedeniyle, tedavi çoğunlukla yetersizdir (Bain vd., 1982; OIE, 2008).

Ayrıca, domuzlarda konka atrofisi olarak tanımlanan ve gelişimi engelleyen Atrofik rinitis ve bronkopnömoni enfeksiyonları görülmektedir. Bu enfeksiyonlar Dünya ekonomisine önemli kayıplar vermektedir (Lax ve Chanter, 1990). Bunun yanı sıra tavuk kolerası da sonuçları itibariyle dünya ekonomisini olumsuz olarak etkileyen, kronik şekliyle ilerleyen, evcil ya da yabancı kanatlı hayvanlarda perakut, akut ve septisemik olarak da devam eden, yüksek oranda morbidite ve fatalite nedeni olarak bilinen enfeksiyondur. Bu enfeksiyonun perakut ya da akut olarak ortaya çıkan vakalarının tedavisinde kemoterapi oldukça sınırlıdır. Bu nedenle bu enfeksiyonlar

içerisinde rezervuar enfeksiyonların ortaya çıkarılması ve bunların elimine edilmesi son derece önemlidir (Christensen ve Bisgaard, 2000). Bu enfeksiyonun genellikle kanatlı hayvanlarda görülmesinin yanı sıra insanlarda da az da olsa görülmektedir. İnsanda görülen bu nadir pastörellozis durumları genellikle etçil hayvanların tırmalması ve ısırılmaları neticesinde açığa çıktığı belirtilmiştir (Khan vd., 2012).

1.1.2. *Pasteurella* Türlerinin Tarihçesi

Pasteurella ilk olarak Louis Pasteur tarafından 1800'lerde tavuk kolerasına sebep olduğu gerekçesiyle tanımlanmıştır. Pasteur ard arda pasajlama uygulamasının bakteri kaynaklı suşlarda virülens etkisini azalttığı ve bu suşların inoküle edilmesi ile kanatlı hayvanlarda hastalığa karşı koruyucu bağışıklık kazanıldığını belirlemiştir (Dabo vd., 2007). Pasteur tarafından temelleri atılan bu çalışmadan yaklaşık elli yıl sonrasında biyokimyasal ve morfolojik yapıları baz alınarak *Pasteurella septica* ve nihayetinde 1939 yılında *Pasteurella multocida* şeklinde adlandırılmıştır (Dabo vd., 2007).

Louis Pasteur tarafından ortaya konulan çalışmaların akabinde pastörelloz kavramı; Gram negatif, fakültatif anaerofilik özellikte, hareketsiz, kokobasil veya çomak morfolojisini içeren etkenlerin evcil hayvanlar üzerinde sebep olduğu enfeksiyon türlerini belirtmek için kullanılmıştır. Bunun yanı sıra *Pasteurella* uzunca bir zaman özellikle ruminantlarla birlikte çoğu evcil hayvanda gözlemlenen pulmoner, sistemik ve septisemik kaynaklı enfeksiyonlar için de bağlantılı olan bir cins şeklinde kullanılmıştır. Ancak zamanla moleküler biyolojide meydana gelen gelişmelerin de yardımıyla uygulanan DNA hibridizasyonu ve 16 S r-RNA gen sekans analizlerinin neticesinde aslında tek bir cins altında tanımlanan bu etkenlerin, ortak özellikler açısından oldukça benzer olan ama farklı türleri de kapsadığı düşünülerek yeni bir sınıflandırma yolu izlenmiştir (Mohamed ve Abdelsalam, 2008).

Nihai sınıflandırma neticesinde Pasteurellacea familyasında *Actinobacillus*, *Avibacterium*, *Mannheimia*, *Pasteurella*, *Haemophilus*, *Histophilus* ve *Bibersteinia* cinsleri veteriner hekimlik yönünden oldukça önemli olduğu düşünülmektedir (Quinn vd., 1994). Yapılan yeni sınıflandırmada önceden *Pasteurella haemolytica* biyotip A şeklinde tanımlanan tür *Mannheimia granulomatis*, *Mannheimia varigena*,

Mannheimia ruminalis ve *Mannheimia glucosida* türlerinin de içinde bulunduğu *Mannheimia* cinsi içerisinde sınıflandırılarak *Mannheimia haemolytica* olarak yeniden isimlendirilmiştir (Angen vd., 1999; Mohamed ve Abdelsalam, 2008). *P. haemolytica* biyotip T öncelikle *Pasteurella trehalosi* olarak ve daha sonra ise *Bibersteinia trehalosi* şeklinde yeniden adlandırılmıştır (Harper vd., 2007). Ayrıca kanatlı hayvanlarda enfeksiyona yol açan *Pasteurella paragallinarum*, *Pasteurella volantinum* ve *Pasteurella gallinarum*'da *Avibacterium* cinsi içerisine dahil edilmiştir (Blackall vd., 2011). Pasteurellaceae familyasına dahil edilen ve oldukça önemli patojenik türler olan *P. multocida*, *M. haemolytica* ve *B. trehalosi* hayvanlarda üst solunum yolu içerisinde de görülebilmektedir (Mohamed ve Abdelsalam, 2008).

M. haemolytica'nın sığır, keçi ve koyunlarda gözlemlenen pnömoni vakalarında birincil veya ikincil etken olarak görülebildiği, sığırlarda pnömonik pastörelloz şekliyle gözlemlenen ve shipping fever olarak isimlendirilen ve koyunlarda ise septisemi ve gangrenli mastitis ve evcil hayvanlarda ise non-spesifik yangılar şeklinde lezyon oluşumunda etkili olduğu belirtilmiştir. Bununla beraber *B. trehalosi*'nin ise 5 ile 12 aylık koyunlar arasında gözlemlenen septisemi ve akut sistemik enfeksiyonlarla ilişkili olduğu değerlendirilmiştir (Mohamed ve Abdelsalam, 2008; Quinn vd., 1994).

Mutters ve ekip arkadaşları tarafından 1985 yılında DNA hibridizasyonu çalışmaları neticesinde *P. multocida*'nın *P. multocida*, *P. gallicida* ve *P. septica* olmak üzere üç farklı alt türe ayrıldığı belirtilmiştir (Mutters vd., 1985). Bu çalışmanın akabinde Bisgaard ve ekibi tarafından ortaya konulan diğer bir çalışmada *P. multocida* alt türlerinin trehaloz, sorbitol ve dulsitol fermantasyon testleri sonuçlarına göre tanımlanabileceği ve ayrıca *P. multocida*'nın trehaloz, sorbitol ve dulsitol pozitif, *P. septica*'nın dulsitol ve sorbitol negatif ve trehaloz pozitif olduğu, *P. gallicida*'nın ise dulsitol ve sorbitol pozitif, trehaloz negatif olarak tanımlandığı belirtilmiştir (Christensen vd., 2005). Buna ilaveten yapılan diğer bir çalışmanın sonucunda *P. gallicida*'nın NCTC 10204 suşunun dulsitol negatif olarak bulunduğu belirtilmiştir (Fegan ve Vanderline, 1995).

Yapılan çalışmalar neticesinde *P. gallicida*'nın kanatlı hayvanlardan izolasyonunun daha fazla olduğu gözlemlenirken, *P. septica*'nın çoğunlukla kedi ve köpekten izole edildiği belirtilmiştir (Dabo vd., 2007). Bununla beraber 2002 yılında Captini ve ekibinin ortaya koyduğu çalışmada kaplan ısırmasından elde edilen izolatların fenotip özelliklerinin 16 S rRNA gen sekans analizi ile kıyaslanması sonucu elde edilen bu izolatların farklı dördüncü bir alt tür olarak olduğu ifade edilmiş ve bu tür *P. multocida* subsp. *tigris* olarak adlandırılmıştır (Stanek vd., 2002).

1.1.3. *Pasteurella* Türlerinin Genel Özellikleri

Pasteurella türleri Gram negatif, küçük kokoid çomak şeklinde, hareketsiz ve spor oluşturmeyen türlerdir. Ayrıca kan veya serum içeren besiyerinde oldukça iyi bir şekilde üreme özelliğine sahip olan ve agarda birkaç gün canlı olarak kalabilen, fakültatif anaerofilik, oksidaz ve katalaz pozitif özellikleri sahiptir (Markey vd., 2004). Etkenlerin izole edilmesinde çoğunlukla tercih edilen besiyerleri nutrient agar, çikolata agar ve kanlı agar olarak belirtilmiştir (Dziva vd., 2008). Bununla beraber 2000 yılında Lee ve çalışma arkadaşları tarafından ortaya konulan bir çalışmada, %10 koyun kanı, dekstroz, thallos acetate, cycloheximid, kristal violet ve nişasta eklenmesi ile hazırlanan besiyerinin kanatlı hayvanlarda sindirim sisteminden *Pasteurella* türlerinin izolasyonunda kullanılabileceği belirtilmiştir (Lee vd., 2000).

Pasteurella türleri morfolojik olarak kanlı agarda mukoid veya mukoid olmayan koloniler meydana getirmektedir. Mukoid koloniler sığır, tavşan ve domuzlarda pnömonik akciğer lezyonlarından izole edilebiliyor iken, mukoid olmayan koloniler ise çoğunlukla kanatlı hayvanlardan izole edilebilmektedir (Dziva vd., 2008). Katı besiyerlerinde yuvarlak, parlak, gri ve hemolitik olmayan koloniler meydana getirirler. Etkenler, dokulardan yapılan Giemsa boyamada bipolar olarak görüntülenirler.

Pasteurella türleri safra tuzlarına karşı duyarlı olduğundan MacConkey agarda üreyememektedir.

Etkenler laktoz ve maltozu fermente edemezken, glikoz ve sukrozu kullanmaktadırlar. Üreaz negatif etkenler, ornitin dekarboksilaz ve indol pozitif

etkenledir (Markey vd., 2004). Buna ilaveten, D-trehaloz, D-ksiloz ve L-arabinoz fermentasyon testleri birbirinden farklılık göstermektedir (Markey vd., 2004).

Pasteurella türleri 0.5-1.5 µm uzunluğu 0.2-0.4 µm genişliğe olan oval, kısa, kokoid, kısa küçük çomak ve az da olsa filament biçimindedir. Gram negatif özelliklere sahip bu türlerin boyanması en iyi genellikle toluidin mavisi, metilen mavisi ve Giemsa'dır. Enfekte edilmiş dokuyla kan kullanılarak hazırlanan preparatlar bipolar görünüme sahip olmanın yanı sıra sporsuz, hareketsiz ve kapsüllüdürler. Kapsül özellikle A ve D tiplerinde net olarak görülmektedir. Fosfataz, oksidaz ve katalaz reaksiyonları bakımından pozitif özelliktedir. *P. multocida*'nın laktoz, maltoz, dulsite ve arabinoz etkileri farklıdır. Ayrıca ramnoz, dekstrin, inulin ve salisine etkisi görülmemektedir. Nitratları nitrite indirger ve indol pozitifdir. Buna karşılık β - galaktosidaz, Voges Proskauer (VP) ve Metil Red (MR) negatif olup, *P. multocida* aerob ya da fakültatif anaerofilik olarak optimum 37 °C'de 24-48 saat arası 7.2-7.8 pH'da üreyebilmektedirler (Aydın, 2006).

1.1.4. *Pasteurella* Türlerinin Virulens Faktörleri

1.1.4.1. Kapsül

Pasteurella suşlarının kapsül temelli antijenleri göz önüne alındığında, türler beş farklı serogruba ayrılmakta olup, bunlar A, B, D, E ve F tip kapsüllerdir (Harper vd., 2006). Bu kapsül tiplerinden, tip A ve tip D'nin kanatlı hayvanlarda koleraya sebep olduğu bilinmektedir. Bu kapsüllerden tip A suşları domuz kaynaklı pnömoni vakalarından izole edilmektedir. Ayrıca tip F suşları, genellikle hasta olan kanatlı hayvanlardan özellikle de hindi ve buzağlarda ölümcül fibrinli peritonitlerden izole edilmekte olup, tip D suşları ise domuzlarda görülen kuru burun (atrofik rinit-özena) vakalarından izole edilmektedir. Bunun yanı sıra tip B ve E suşlarının ise, Asya ve Afrika kökenli tropikal bölgede yaşayan sığır ya da su bufalolarında bulunan hemorajik septisemi vakalarıyla bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Dabo vd., 2008).

Dünya çapında sığırlarda solunum yolları hastalıklarının birincil sebebinin *P. multocida* kapsül tip A olduğu düşünülmektedir (Dabo vd., 2007). Ayrıca kapsül yapıları göz önüne alındığında, kapsül tip A' nın yapısı hyaluronan, tip D' nin

yapısının heparosan ve tip F' in kapsül yapısının ise kondroitinden meydana geldiği gözlemlenmektedir. Ancak yalnızca kapsül tip B suşlarının hyaluronidaz enzimi içerdiği bilinmekte olup, bu yapıların konakçı hücrelerinin bir kısmının yapısal olarak glikozaminoglikanlar ile benzer yapıda olduğu görülmektedir. Bu benzerlik sayesinde bakterinin kapsülüne yönelik meydana gelen karşı antikor tepkisi ve komplement aktivasyonu yeterli olmamakta ve bu durum mikroorganizmanın konakçı hücre karşısında bağlanma (adhezyon) gücünün artmasına yol açmaktadır (Harper vd., 2006; Dabo vd., 2008).

Genellikle kapsüle sahip olan mikroorganizmaların fagositoz karşısında daha fazla direnç sahibi olduğu ve ayrıca kapsüle sahip olan suşların virülensinin, kapsüle sahip olmayan suşların virülenslerine göre daha dirençli olduğu düşünülmektedir (Dabo vd., 2007).

1.1.4.2. Fimbria (Pilus)

Fimbria, konakçı hücre yüzeylerine tutunma ve kolonizasyon aşamalarında oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Pasteurellaceae familyasında fimbrialar tip IV pilus adezinleri, tip V protein ve Flp pilus olmak üzere üç farklı gruba farklılaşmışlardır (Kuhnert ve Christensen, 2008).

Tip IV özellikli fimbrialar hakkında yapılan bir çalışmada, bu fimbrianın *P. multocida*'nın serogrup A, B ve D' lerinde virülens etkisi olduğu bildirilmiştir. Bu fimbriaların sahip olduğu *ptf A* geni 18 k Da' lık bir protein olup, çeşitlilik açısından varyanslarda oldukça etkili olduğu ifade edilmiştir (Doughty vd., 2000).

1.1.4.3. Dış Membran Proteinleri (OMB)

Hücrenin içi ile hücrenin dışında taşınan moleküllerin seçici bir şekilde geçişlerinde hayati öneme sahip olan dış membran proteinlerinin ayrıca adezyon sırasında da kritik rol aldığı bilinmektedir. Ayrıca *Pasteurella*'da bulunan dış membran proteinlerinin birbirinden farklı yetmiş iki protein içerdikleri ve bu yapı itibariyle de oldukça kompleks bir yapıda olduğu belirtilmiştir (Hatfaludi vd., 2010).

Pasteurella türlerinde bulunan çeşitli ağırlıklarda ki dış membran proteinleri ile tavşanlarda Pastörellozise karşısında koruyucu immun etkisi verme eşikleri

araştırılmış ve bilhassa 37.5 kDa ağırlığına sahip protein bandı karşısında monoklonal antikor seviyesinin artma gösterdiği tespit edilmiştir (Lu vd., 1988). Ayrıca bu ağırlıktaki dış membran proteininin Gram negatif bakterilerde bulunan protein H (porin proteini) olarak bilindiği ve sahip olduğu immunojenik özelliklerle birlikte aşı araştırmaları için de kullanılabilmesi ifade edilmiştir (Luo vd., 1999).

Bununla beraber *P. multocida*'da bulunan OmpH dış membran proteininin 32 kDa ile 39 kDa arasında birbirinden farklı kütle ağırlığında bulunduğu saptanmıştır (Marandi ve Mittal, 1997). Bu sayede adı geçen protein ile hazırlanmış olan rekombinant aşılarda fareler üzerinde de koruyucu seviyede bağışıklık oluşturabileceği belirtilmiştir (Tan vd., 2010). Her ne kadar OmpH dış membran proteininin fareler üzerinde de koruyucu seviyede bağışıklık oluşturabileceği tespit edilmiş olsa da, aynı durumu OmpA proteini için söylemek mümkün değildir. Ayrıca N- terminal lipid katmanı ve C- terminal alanı periplasmic alan ile peptidoglikan arasında karşılıklı ilişki içindedirler (Nikaido, 2003). Bu sebeplerden dolayı OmpA proteini dahil edilerek hazırlanmış olan monoklonal antikorlar fareler için yeterli seviyede korumaya sahip olmasa da (Mittal ve Marandi, 1997), en önemli görevlerinden birisinin *P. multocida* ve hedef hücre arasında adezyon sağlamak olduğu bildirilmiştir (Hatfaludi vd., 2010).

P. multocida'nın 16 serovarında yer alan 87 kDa ağırlığına sahip protein diğerleri ile kıyaslandığında koruyucu immün özelliğe sebep olduğu ve yapısal olarak *Haemophilus influenzae* D15 proteiniyle aralarında yakınlık olduğu ifade edilmiştir (Adler ve Ruffolo, 1996).

1.1.4.4. Lipopolisakkarit

Lipopolisakkaritler, Gram negatif bakterilerin hücre duvarı yapısında bulunan temel virülens faktörlerindedir. Ayrıca lipopolisakkaritler üç ana kısımdan meydana gelmekte ve *Pasteurella* suşları içerisinde birbirinden farklı 16 somatik serotip meydana gelmesinde etkin olmaktadır. Bunlar, endotoksik faaliyetlerde görevli olan lipid A kısmı, O spesifik oligosakkarit kısmı ve merkez polisakkaritler kısmıdır (Harper vd., 2011).

Lipopolisakkaritlerin yapısı glukoz-galaktoz ile birlikte 4-2-3 oranında ve L-glisero-D-manno-heptose'dan oluşmaktadır. Az miktarda N asetil galaktozamin ve N asetil glukozamin tespit edilmiştir. Oluşan yapı 2 keto 3 deoksioktulosonic asit ile birlikte Lipit A ile bağ yapar (Harper vd., 2007). Lipopolisakkaritlerin yapısında oldukça önemli bir virülens etkisi oluşturan fosfokolin (PCho), antimikrobiyel dirence karşı, bakteri adezyonunda ve de komplementin oluşumunda da etken bir faktördür. Ancak *P. multocida* Pm 70 suşu gen sekans analizi durumunda bahsedilen fosfokolin lipopolisakkarit yapısında olmadığı, bunun yanında *P. multocida* VP161 ve X 73 suşlarının lipopolisakkaritte galaktoz taşıdığı tespit edilmiştir (Harper vd., 2007).

Lipopolisakkaritlerin antijeniteleri üzerine yapılan çalışmalarda önemli sonuçlara ulaşılmıştır. Örneğin fareler üzerinde yapılan koruma testleri sonucunda sadece homolog serotip karşısında korunma sağlandığı bildirilmiştir (Wijewardana vd., 1990). Mandalarda ise intravenöz yollardan enjekte edilen *P. multocida* serotip B2 içeren lipopolisakkarit antijenlerinin klinik olarak hemorajik septisemiye neden olduğu bildirilmiştir. Tavuklarda ve farelerde yapılan çalışma sonucunda *P. multocida* serogrup A lipopolisakkarit antijeninin ölümcül etkilerine karşı son derece direnç gösterdiği, ayrıca hindilerde de durumun bundan çok fazla geri olmadığı yönünde bulgular elde edilmiştir (Hatfaludı vd., 2010).

1.1.4.5. Toksinler

Pasteurella spp. toksinleri, serovar D ve belirli bir serovar A suşları tarafından oluşturulan protein yapıda, genellikle domuzlarda atrofik rinitis vakalarında etkili toksinlerdir. Yaklaşık ağırlığı 146 kDa olan saflaştırılmış dermonekrotik toksin molekülü, fareler üzerinde dalak atrofisi ve mukoid ishale, sığırların akciğer hücrelerinde sitotoksite, tavşan, keçi, domuz ve sıçanlarda burun atrofisine ve karaciğerde vasküler endotelial sorunlara neden olmaktadır (Lee vd., 2012).

1.1.5. *Pasteurella* Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

Dünyanın birçok ülkesinde gözlemlenmenin yanı sıra oldukça geniş bir konakçı çeşidini içinde barındıran sığır pastörellozu, hastalığa etki ettiği düşünülen etkenlerin, hasta olmayan hayvanların üst solunum yolunda ve özellikle de yutak kısımlarında fakültatif patojen şeklinde yerleşerek oluşturduğu ve bu etkenlerin

hayvanlarda direnci zayıflatıcı etkisi sebebiyle de hastalığa yakalanma riskini arttırdı belirtilmiştir (Aydın, 2006).

Pastörellozis çok çeşitli ortam ve şartlarda görülebilmektedir. Belirli bir coğrafi bölgenin iklimi ve çeşitli stres faktörleri ile değişken hava durumu olayları hayvanları pastörelloza açık hale getirir (Kumar vd., 2015). Özellikle bahar aylarında mera ve ahırlarda beslenen hayvanlar arasında yaygındır. Bunun yanında, soğuk ve rutubetin fazla olduğu şartlarda, geçici mevsim değişikliklerinde uzun ve yorucu etkiye sahip hareketlerde, iyi beslenemeyen ve hasta olan hayvanlarda ve de hijyenik açıdan yetersiz ortamlarda bakımı yetersiz olan hayvanlarda görülmekte olup, bu sektörün ekonomisinde son derece önemli dezavantajlar sağlamaktadır. Hastalık genellikle sporadik ve enzootik özellikte devam eder. Hastalık belli bir yaş ile sınırlı olmaksızın genellikle deri yaraları, solunum ve sindirim yolu ile bulaşmaktadır (Aydın, 2006).

Pnömoni hastalığına yakalanma durumunu belirlemek amacıyla ay ve mevsim kriterlerine göre ortaya konulan bir çalışma sonucunda, bu hastalığın genellikle %16 oranında yaz aylarında görülmekte iken, yaklaşık %22 oranında yağışın yüksek olduğu aylarda ve %23' lük oranda da kış mevsiminde olduğu sonucuna varılmıştır (Maity ve Deb, 1991). Bununla beraber en yüksek oranın yaklaşık %28 ile Kasım ayı olurken, en düşük oran yaklaşık %14 ile Haziran ayı olduğu tespit edilmiştir (Bowland ve Shewen, 2000).

1.1.6. *Pasteurella* Türlerinin Neden Olduğu Enfeksiyonlar Ve Klinik Bulgular

Pasteurella türleri geniş bir konakçı spektrumuna sahiptir. Etkenler kanatlı hayvanlarda kolera, sığırlarda solunum yolları kompleksitesi, hemorajik septisemi, shipping fever (pastörelloz) ve enzootik pnömoni, domuzlarda atrofik rinitis ve tavşanlarda rinitis vakalarından primer ya da sekonder patojen olarak izole edilmekte (Dziva vd., 2008), ayrıca kedi ve köpek ısırılmaları ile insanlara da bulaşmaktadır (Christensen vd., 2005). Gıda yoluyla insanlarda *P. multocida* enfeksiyonu oluşumuna dair bir çalışma yoktur (Dryden vd., 1996; Godey vd., 1999; Ryan vd., 2019).

P. multocida, *M. haemolytica* ile birlikte bronkopnömonideki etkisi sığırların solunum sistemi enfeksiyonlarında birçok araştırmada bildirilmiştir (Miller vd., 2011; Taylor vd., 2015). Olumsuz çevre şartları, uygun olmayan hayvan transportu, bakteriyel ve viral etkenler sebebiyle oluşan stres, ruminantlarda solunum sistemi enfeksiyonlarında etkin faktörlerdir (Garcia-Alvarez, 2018)

Sığırların solunum sistemi hastalığı kompleksi (BRD), sığırlarda hastalık ve ölümlerin başlıca sebebi olarak buzağı ishallerinden sonra ikincidir. Hastalığın oluşumunda birden çok faktörle birlikte özellikle *P. multocida* semptomlarından etkin olarak sorumludur (Dubrovsky vd., 2019) ve sıklıkla hastağın etkeni olarak tanımlanmıştır (Lubbers ve Turnidge, 2015; Mates vd., 2016; Stanford vd., 2020;)

Sığır ve bufaloların baş-boyun ekseninde gözlemlenen ödemlerle bilinen hemorajik septisemi, çoğunlukla kapsül serotip B:2 ve E:2 suşlarının sebep olduğu akut ve fatalitik bir enfeksiyondur (Quinn vd., 1994). Bu hastalık Güney Doğu Asya'da çoğunlukla endemik ve sporadik karakterdedir. Ayrıca inkübasyon süresi kısalığı ve per akut seyretmesi sağaltım çabalarını geçersiz kılmaktadır (Dziva vd., 2008).

Pnömonik pastörellozis belirtileri altı aylık ve aşağısı buzağılarda enzotik pnemoni, sığırlarda bronkopneumoni şeklinde belirti göstermektedir. Genellikle bu tip hastalıklarda solunum sistemi ile ilgili bölümlerinde serogrup A'nın yaygın olduğu gözlemlenmiştir. Güneydoğu Asya ülkelerinde ise sığır ve mandalarda serogrup B ve E kaynaklı hemorajik septisemi görülmekte olup, ekonomik olarak oldukça fazla kayıplara yol açmaktadır. Bunun yanında, geyiklerde de aynı türde salgının olduğu belirtilmiştir (Soike vd., 2012).

Pastörellozis farklı hayvanlarda farklı özellikler göstermektedir. Örneğin sığır ve mandalarda akut, kronik ve subakut şekliyle devam edebilir. Akut olarak meydana gelen vakalar genellikle kısa sürede ölümle sonuçlanmakta olduğu için, hastalık belirtisi semptomları tespit etmek çok mümkün olmamaktadır. Böyle bir durumda hayvanlarda iştahsızlık ve durgunluk görülebilir. Sulu dışkıyla beraber, kanlı olarak devam ettiği gözlemlenebilir. Kas kasılmalarıyla birlikte epistaksis ve hematüri yaygındır. Subakut vakalarda ise, enfekte olmuş hayvanın baş, boyun ve göğüs kısmında yayılma türü ödemler gözlemlenebilmektedir. Meydana gelen ödemler

anüs, genital bölgeler, eklemler, bacak ve dil bölgesinde yoğunlaşmaktadır. Bu durumda hayvanlar asfeksi yada kanlı ishal sebepleri ile ölümler yaşarlar. Kronik vakalarda ise hayvanda genel durum bozukluğu gözlemlenmekte olup, solunum kesik kesik ve hızlı şekilde seyreder. Ayrıca enfekte olmuş hayvanda bu duruma kuru ve acılı öksürük eşlik eder. Hayvanın burnundan başlangıçta mukoz ve devamında mukopurulent ile birlikte kanamalı akıntı gelir. Akciğerlerinde oskültasyonda krepatasyon sesleri duyulmaktadır (De Alvis, 1999).

Koyunlarda ise solunum sistemi enfeksiyonunun temel etkenleri olarak *M. haemolytica*, *Bibersteinia trehalosi*, *P. multocida* ve *Mycoplasma ovipneumoniae* türleri bulunur (Wood vd., 2017; Politis vd., 2019).

Ayrıca tavşanlarda görülen pnömoni ve rinitis tabanlı enfeksiyonlar serotip A temelli olduğu ve genellikle hayvanın bakımı ve bir yerden bir yere götürülmesinin önemli bir etki yaptığı bildirilmiştir (Quinn vd., 1994).

Domuzlarda görülen pastörellozis atrofik rinitis ve bronkopnömoniye sebep olur. Yapılan çalışmalarda atrofik rinitis enfeksiyonlarının bilhassa *P. multocida serogrup D* ile bağlantılı olduğu ve nadir olarak ta serogrup A ile *Bordetella bronchiseptica* tarafından izole edilebileceği belirtilmiştir. Domuzlarda gelişimde gerileme belirtileri ile özdeşleştirilen atrofik rinitis, konka atrofisi ile benzer türde önemli sonuçlar doğuran hastalığa sebep olmaktadır. Enfeksiyonun ortaya çıkardığı gözlemler ise genellikle nazal akıntıları, gözyaşı akıntıları, nazal konka atrofisi, hemoraj ve burunda kasılma şeklindedir (Horiguchi, 2012). Bu enfeksiyonda mortalite oranı düşük olmakla birlikte, ekonomik olarak verim kaybı gözlemlenmektedir (Harper vd., 2006).

Kanatlılarda görülen kolera hastalığı, kapsül tip A ve Tip F suşları tarafından evcil ya da yabancı kanatlılarda oluşturulan akut ya da kronik bir şekilde süren bir enfeksiyon çeşididir (Quinn, 2011). *P. multocida serogrup A* ile izole edilen tavuk kolerasının akut olanlarında klinik semptomlar gözlemlenmemektedir. Genellikle septisemi ile birlikte süregelen ve kapsül tip A suşları tarafından oluşturulan akut tip enfeksiyonlar mortalite oranı en yüksek enfeksiyonlardır (Rimler ve Rhodas, 1989). Enfeksiyonun son bölümünde durgunluk, ateş, depresyon, ibikte sararma, solunum sayısı

hızlanması ve mukoid akıntılar görülebilmektedir. Perakut ve akut olan enfeksiyonlarda teşhis ve tedavi yapabilmek oldukça zordur. Bu sebepten ötürü rezervuar olanların izole edilmesi tavsiye edilmektedir. Kronik yapıda ise fatalite oranı düşük olmasına karşın, enfeksiyon bazı doku ve organlara nüfuz ederek lokalize enfeksiyon oluşmasına neden olur (Mohamed vd., 2012).

1.1.7. *Pasteurella* Enfeksiyonlarının Patogenezisi

Pasteurella enfeksiyonlarında viral etkilerin yanı sıra stres koşulları da hastalığın ortaya çıkmasını hızlandırıcı faktörlerdir (Quinn vd., 1994). *Pasteurella* kaynaklı enfeksiyonlarda, etkenler genellikle enfekte ettiği bölgede çoğalmaları sonucunda dolaşım sistemine dahil olurlar. Kan damarları civarında çoğalan mikroorganizmalar, nispeten daha hızlı çoğaldıkları için, enfekte ettiği hayvanın 12 ile 24 saat arasında hemorajik septisemi kaynaklı ölümüne neden olabilir. Bu enfeksiyonun süresi uzadıkça iç organlarda ve mikroorganizmanın çoğaldığı kısımlarda nekrotik durumlar gözlemlenir (Othman vd., 2012).

Bu enfeksiyonun gelişmesinde, hedef bakterinin mukozal çeperlere yapışabilme yeteneği ile kapsül yapısı gereği fagositozdan etkilenmeme özelliklerinin etkin olduğu düşünülmektedir. Buna ilaveten *P. multocida*'nın konakçı canlıdan demir alabilmeyi sağlayan genlere de sahip olduğu belirtilmektedir. Ayrıca kapsül tip D suşlarının temel virülens etkeninin toksin üretebilme kabiliyeti olduğu bildirilmektedir (Quinn vd., 1994).

Akut olarak gelişen bronkopnömoninin çoğunlukla *P. multocida*'dan kaynaklandığı belirtilmiş olsa da (Dungworth vd., 1985), gerek besi gerekse süt sığırlarında görülen *P. multocida*, gerekse başka bakteriyel patojenlerin etkisi ile ortaya çıkan pnömonide hastalığın tam olarak teşhisini yapabilmek oldukça zordur (Dabo vd., 2007). Bu konuda ortaya konulan çalışmalarda *P. multocida*'nın farklı bakteri veya viral patojenler ile beraber pnömoni vakalarından izole edildiği (Autio vd., 2007) ve birincil patojen olup olmadığı hakkında kesin bir şey söylenemeyeceği belirtilmiştir (Lopez, 2007). Bunun yanısıra, sözü edilen bakterinin gerek doğal gerekse deneysel enfeksiyonlarda izole edilebilmesi, bunun birincil patojen olabileceği hususunu desteklemektedir (Dabo vd., 2007). Bu bakterinin akciğer üzerinde meydana getirdiği

patolojik lezyonlar, sözü edilen hastalığın inkübasyon süresi de göz önüne alınmak koşuluyla bazı araştırmacılarca da farklı olarak yorumlanmıştır. Bunlardan bir kısmı (Haritani vd., 1989; Mathy vd., 2002; Ewers vd., 2006; Lopez, 2007) enfeksiyonun basit olarak bronkopnömoni semptomları ile devam ettiğini belirtirlerken, bazı araştırmacılar da fibrinosupuratif akut (Gagea vd., 2006), fibrinli ve fibrinopurulent (Dungworth, 1985), subakutkronik fibrinopurulent (Mosier, 1997), supuratif ve fibrinonekrotik (Tegtmeier vd., 1999) lezyonları hatırlattığı hususunda görüş bildirmişlerdir.

Tavuk kolerasının birincil etkeni olan *P. multocida* serotip A:1, 3 ve 4 kümesi hayvanlarında ya da yabani kanatlılarda görülmektedir. Bu hastalık akut seyreden septisemi ile aynı özellikler taşımaktadır ve genellikle intravasküler koagülasyon, fibrinöz pnemoni, multifokal nekrozis ve ekimotik hemoraji biçimlerinde görülmektedir (Christensen ve Bisgaard, 2000).

1.1.8. *Pasteurella* Enfeksiyonlarının Teşhisi

İdentifikasyon kelime manası itibariyle tanımlama anlamına gelmekte olup, mikrobiyolojik açıdan anlamı ise izole edilen bir mikroorganizmanın cins ve türünün ortaya çıkarılması amacıyla yapılmaktadır (Ayhan, 2000).

İdentifikasyon uygulamalarında temelde üç aşama vardır. Bu aşamalar morfolojik ve fizyolojik özelliklerin ortaya koyulması, biyokimyasal testler ve üçüncü olarak da ihtiyaç duyulursa serolojik ya da toksin belirleme testleridir. Bu testler sonucunda elde edilen izolatlar eldeki materyalin ne olduğu ya da hangi kategoride yer aldığı gibi önemli bilgileri tespit etmede son derece önemli rol oynamaktadır (Ayhan, 2000).

Pasteurella türlerinin identifikasyonunda genellikle üç farklı yöntem kullanılmakta olup, bunlar sırasıyla geleneksel teknikler, polimeraz zincir reaksiyonları (PZR) ve serolojik testler olarak adlandırılmaktadır. Geleneksel yöntemler sebep olan mikroorganizmanın besiyerlerinde çoğaltılması ve buna dayalı biyokimyasal test yapımını içermektedir. Hazırlanan kültürlerden güvenilirlik olarak ilk önce gelenlerden olup, uzun zamanda sonuç alınması ve de saf kültür meydana getirmenin kolay olmaması yönüyle dezavantajlıdır. Bu yöntemdeki zamanın fazla uzun olması

nedeniyle çeşitli farklı yöntemler geliştirilmiş olup, moleküler yöntemler bunların başında gelen yöntemlerdendir (Dziva vd., 2008).

Pasteurella türlerinin izolatlarında çeşitli ön identifikasyon yöntemleri bulunmakta olup bunlar; Gram boyama yöntemi, katalaz-oksidad reaksiyonları, kanlı agar ortamında hemoliz oluşmama, MacConkey agarda üreme gözlemlenmemesi ve bazı karbonhidratları fermente etme yöntemleridir. Bununla beraber, çeşitlilik gösteren doku ve konakçılardan sağlanan izolatların biyokimyasal özellikler yönünden farklılıklar gösterdiği, bu nedenle konvansiyonel bakteriyolojik metodlar kullanılarak yapılan teşhislerin çok güven vermediği ve mutlaka moleküler yöntemlerle desteklenmesi gerçeği unutulmamalıdır (Dziva vd., 2008).

Pastörellozis identifikasyon araştırmaları çerçevesinde yapılan incelemelerde hedef bakteriden oluşan izolatların ön identifikasyon uygulaması için, Colombia blood agar (kanlı agar) base besiyerlerinde şüpheli koloniler kullanılarak hazırlanan preparatlar, öncelikle Gram boya metodları ile boyaması yapılmıştır. Gram negatif ile oval görümlü kokobasillerin, oksidad ve katalaz tepkimeleri sonucu bakteri kolonilerinde sonucun pozitif olduğu belirlenmiş ve bunun sonucunda saf kültür elde etmek için BHI broth ve Colombia blood agar base besiyerlerinde pasajlama işlemi yapılmıştır. Üretilen saf kültürler arasından MacConkey agarda üreme gelişimi göstermeyen, TSI agarda uygulama sonucunda dip kısmında asit oluşumu gözlenen ve SIM mediumda hareketsiz olduğu ve yapılan indol testinde pozitif yada negatif olarak gözlemlenen izolatlar şüpheli kategorisinde kabul edilmiştir (Güler vd., 2013).

Ayrıca *P. multocida* izolatlarının teşhis edilmesinde bazı bilim adamları tarafından bakteri identifikasyon kitleri (API 20NE) kullanmanın fazla güvenilir olmadığı ileri sürülürken (Boot vd., 2004), başka çalışmalarda ise bu kitlerden elde edilen sonuçların konvansiyonel karbonhidrat fermante testleri ile uyumlu sonuçlar verdiği belirtmektedir (Samuel vd., 2003).

Ayrıca ortaya konulan farklı bir çalışma sonucunda pnömoni taşıyan domuzlardan alınan ve PZR yöntemi kullanılarak identifiye edilen 60 *P. multocida* izolatlarının API 20NE kiti ile %95, API 20E kiti kullanıldığında ise %60'ının uyumlu olduğu belirtilmiştir. Buna ilaveten araştırmaya konu olan izolatlarda API 20E

kullanıldığında 3; API 50CHB/E kullanıldığında 6 ve API ZYM kullanıldığı zaman ise 2 farklı biyotip oluştuğu, 6 biyotip oluşturan API 50CHB/E kitinin identifikasyon için güvenilir olmadığı, ama biyotip belirleme için yerinde bir teknik olabileceği bildirilmiştir (Lizarazo vd., 2008).

Solunum yolu enfeksiyonları gösteren sığır ve koyunlar üzerinde yapılan biyokimyasal deneyler sonucunda, bu hayvanlardan nazal svap ve akciğer numuneleri alınarak bakteri açısından incelenmiş, bu çalışma sonucunda hasta görünüm sergileyen sığırlarda çoğunlukla *Pseudomonas aeruginosa*, *P. haemolytica* (*M. haemolytica*) ve *Actinomyces spp* bakterilerinin izole edilebildiği, ayrıca akciğerlerinden alınan numunelerinde ise *P. haemolytica*, *Actinomyces pyogenes*, *Erysipelothrix spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *P. Ureae* izole edildiği, aynı belirtilerin koyunlarda ise *Moraxella spp.*, *Erysipelothrix spp.*, *Pseudomonas pseudomallei* ve *P. multocida* olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada hasta olmayan hayvanlardan elde edilen *P. multocida* izolatlarına ait trehaloz negatiflik oranı %0 iken, hasta olanlarda ise bu oranın %47,1 olarak tespit edildiği ifade edilmiştir (Barbour vd., 1997).

Yine solunum yolu patojenlerinin süt sığırcığı üzerine yapılan bir çalışmada, *P. multocida*'nın sığırların solunum yollarında en çok izole edilen patojen yapı olduğu ve bu hasta buzağılarda trake-bronşiyal lavaj oranının %43,3'lük kısmından izole edildiği, şüpheli buzağılarda bu oranın %36,6 olduğu ve sağlıklı buzağılarda ise %26,4 olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca çalışma neticesinde *P. multocida* izolatlarından % 75'i indol negatif olarak belirlenmiş ve bu durumun solunum yolu hastalıklarının önlenmesi hususunda çalışmalar yapılmasının önemi vurgulanmıştır (Autio vd., 2007).

Ayrıca 2004 yılında Christensen ve çalışma arkadaşları tarafından ortaya konulan bir çalışmada sığırların solunum yolu aracılığıyla izole edilen *P. multocida* suşları içerisinde indol, ornitin dekarboksilaz negatif ve mannitol olabileceği belirtilmiştir (Christensen vd., 2005).

Buna ilaveten sığırların solunum yolu kullanılarak oluşturulan 31 *P. multocida* izolatının laktoz, sorbitol, ornitin dekarboksilaz ve ksiloz testleri sonucu farklılık

gösterdiği gözlemlenmiş olup, özellikle dulsitol ve arabinoz testlerinin bütün izolatları negatif bulunduğu bildirilmiştir. Ayrıca, çalışma sonucunda elde edilen izolatların α -glukozidaz aktivitesinin trehaloz fermantasyonu ile aralarında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Sellyei vd., 2015).

Klasik yöntemler genellikle standart mikrobiyolojik analizlerin yapılmasında ve mikroorganizmaların geliştirilmesi amacıyla yapılmaktadır. (Mutter vd., 1989).

Polimeraz zincir reaksiyonları yöntemi ise, belirli kromozomal gen alanlarındaki özel birincil hedefleri baz almaktadır. Bu yöntemin en önemli avantajı, geleneksel yöntemlere nispeten mikroorganizmaların daha kısa süre içerisinde ve doğruluğu daha yüksek bir oranda teşhis edilebilmesindedir (Townsend vd.,1998). Ancak, birçok yöntemde olduğu gibi avantajlarının yanı sıra bazı dezavantajları da vardır. Örneğin, kontaminasyon ya da ölü mikroorganizmaların DNA' larının da saptanması buna örnek olarak verilebilmektedir. Bunun yanında kan, dışkı ve idrar v.b. maddeler kullanılarak çalışmaların yapılması, numuneler arasında kros kontaminasyon bulunduğu ve ayrıca bu maddeler içerisinde bulunan substratların Polimeraz zincir reaksiyonlarını inhibe edici özellikte olduğu belirtilmiştir (Çetinkaya, 1998).

Serolojik yöntemler kullanmanın rutin bir şekilde yapılan teşhislerde normalden daha az kullanıldığı bildirilmiştir. *Pasteurella* enfeksiyonları göz önüne alındığında, bunlarda ki antikor seviyesi serolojik açıdan ELİSA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ile tespit edilebilmektedir. Özellikle atrofik rinitis hastalığına sebep olan toksin etkisindeki suşların (De Jong, 1999) ve *P. multocida*'nın dış membranında bulunan proteinler aracılığıyla hemorajik septisemi olaylarında enfeksiyonun sebep olduğu antikor seviyeleri tespit edilebilmektedir (Prado vd., 2006).

İdentifikasyon için bir diğer araç ise Vitek 2 cihazıdır. Bu cihaz antibiyotik karşısında mikrobiyolojik direncin zamanla artmasının verdiği olumsuz durumun ortadan kaldırılması amacıyla, direncin tespitinin yapılması ve doğru bir şekilde bilgi sahibi olmak için önemli bir cihaz olup, vitek bakteriyel identifikasyon duyarlılıklarını test etmek için de kullanılır (Winn vd., 2006). Genellikle tiplendirilmek istenen mikroorganizmanın bulunduğu koloniden belirli bir

yoğunlukta (genelde 0,5 Mc Farland) bakteri süspansiyonu sistem kartuşları üzerindeki belirli alanlara yerleştirilmektedir. Cihaz içerisinde bulunan kartuşları okuması ve de sonuçları analiz etmesi ile tiplendirme yapmış olur. Vitek-2 kart testleri, “BD Phoenix” otomatize sistemleri, MicroScan otomatize sistemlere örnek olarak gösterilebilir. (Öcal D, 2012)

1.1.9. *Pasteurella* Enfeksiyonlarında Sağaltım

Sığırlarda görülen *Pasteurella* kaynaklı birçok hastalığın tedavisinde antibiyotiklerin kullanımı kaçınılmazdır. Veteriner hekimlik sahasında sığırların bu hastalıkları karşısında etki edecek çeşitli antibiyotikler bulunur. Bu antibiyotiklerden bazıları Çizelge 1.1’de özetlenmiştir:

Çizelge 1.1: Sığırların tedavisinde kullanılan antibiyotikler ve özellikleri (Güreli, 2009)

Kullanılan Antibiyotikler	Özellikleri
Sülfonamidler ve kombinasyonları	<p>Kullanım yerleri: Üst solunum yolu enfeksiyonlarında gözlemlenir. Hazırlanışı: Trimetoprim, ormetoprim ve baquiloprim ile 5 kısım sülfonamid + 1 kısım DAP türevi</p> <p>Direnç durumu: Çoklu antibiyotik edilerek kullanılması etki çapını daha da genişleterek, direnç gelişimini azaltmaktadır.</p> <p>Dezavantajları: Enfekte olmuş bölgede nekrotik yıkıntılar oluşması, o bölgede bulunan bakterilere folik asit oluşturmalarını sağlar ve sülfonamid etkililiğini inhibe eder. Bu sebepten dolayı solunum sistemi enfeksiyonlarının şiddetli olduğu hallerde öncelikli olarak kullanılabilir ilaç değildir.</p>
Beta-laktamlar	<p>Türevleri: Penisilinler, Sefalosporinler</p> <p>Kullanım yerleri ve etkisi: Bakterilerin hücre duvarının oluşumunu inhibe eder. Etki ettiği yer ve etki alanı göz önüne alındığında akut vakalarda ve çoğunlukla üst solunum yolları enfeksiyonunda kullanılmaktadır. Bununla beraber bazı antibakteriyel ilaçlarla birlikte birleştirilerek alt solunum yollarında da kullanılmaktadır</p> <p>Penisilinler</p> <p>Etki Alanları: Etki alanları nispeten daha dar olmasının yanında ana molekül baz alınarak ortaya konulan çalışmalar sonucunda ampisilin, karbenisilin ve amoksisilin gibi etki alanları geniş olan oldukça fazla miktarda yarı sentetik penisilinler bulunmuştur</p> <p>Penisilin özelliikle kullanılmaktadır. Penisilinlerin özellikle de amoksisilin ve gentamisinle beraber kullanımında bronkpnömonilerde etkisinin fazla olduğu belirtilmiştir</p> <p>Kullanım Yerleri: Sığırların solunum sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde</p> <p>Türevleri: Penisilin G, ampisilin, penisilin G prokain, amoksisilin, Penisilin G benzetin</p> <p>Sefalosporinler</p> <p>Etki Alanı: Geniş Spektrumlu</p> <p>Kullanım Yerleri: Sığır hastalıklarından solunum yolları enfeksiyonlarında kullanılmaktadır.</p> <p>Türevleri: I., II., III. ve IV. Nesil sefalosporinler</p>
Tetrasiklinler	<p>Kullanım Yerleri: Sığırlarda <i>Pasteurella</i> kaynaklı solunum sistemi hastalıkları karşısında uzun süre etkili olan oksitetrasiklinler kullanılmaktadır.</p> <p>Etki Alanları: Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere, spiroketlere, mikoplazma türlerine, klamidiya ve riketsia türleri üzerinde oldukça etkindir</p> <p>Kullanım Şekli: Uzun süre etkili olan oksitetrasiklinlerle birlikte yapılan tedavide, ilk 24 saatlik süre içerisinde enfekte olmuş hayvanlardan %5 ile %10 u arasında bir iyileşme belirtisi gözlemlenmezse, bunun yerine tedavi tilmikosin veya florfenikol ile sürdürülmelidir.</p>
Florokinolonlar (Kinolonlar)	<p>Etki Alanları: Geniş spektrumlu ilaçlar olup, Gram negatif aerobiklere ayrıca, Mikoplazmalara ve bazı Gram pozitif bakterilere karşı etkilidirler. Oksijenin olmadığı koşullarda ve anaerobik bakteriler karşısında etkileri sınırlıdır.</p> <p>Kullanım Alanları: Sığırlarda SSH'da siprofloksasin, enrofloksasin ve danofloksasin kullanılmaktadır.</p> <p>Dezavantajları: Florokinolonlar beta-laktamlar ile eş yönlü etki gösterirler. Makrolidler ve fenikollerle antagonist etki gösterirler. Büyümekte olan hayvanlarda kırık doku gelişimi ve eklem bozukluklara yol açabilirler. Bu sebepten büyüme döneminde hayvanlar üzerinde kullanılmamalıdır.</p>

1.1.10. *Pasteurella* Enfeksiyonlarında Korunma

İlk olarak 1880 yıllarında kanatlı hayvan kolerasından *P. multocida* izole etmeyi başaran Pasteur, bunları in vitro pasajlar kullanarak attenué etmesi sonucunda tarihte ilk aşı kullanılmaya başlanmıştır. Geçmişten günümüze evrilen aşular, bugün inaktif ya da canlı attenué aşular olarak kullanım alanı bulmaktadır. İnaktif aşular, çoğunlukla daha fazla kullanılmaktadır, fakat belirli homolog serotip karşısında immunité geliştirmesi, etki ettiği süre göz önüne alındığında kısa olması ve de immunitenin farklılık göstermesi bu aşuların dezavantajlarından. Canlı aşular ise, heterolog suşlar karşısında immunité geliştirebilmekte olup, kullanım kolaylığı açısından avantajlıdır. Bununla beraber, aşı suşlarında virülens özelliklerini tekrar kazanması ölüm oranlarında artışa sebebiyet vermektedir (OIE, 2008).

Pasteurella enfeksiyonlarını önlemek amacıyla buzağuların aşılması ve hiperimmun serum takviyesinin, süttten kesilme döneminde ve taşıma koşullarının vermiş olduğu dezavantajlardan 15 gün önce yapılmasının, koruma açısından önemli olduğu belirtilmiştir (Aydın, 2006). Ayrıca sığırlarda gözlemlenen bakteriyel ve viral temelli solunum yolu enfeksiyonlarının üstesinden gelmenin bilinen en iyi yolu aşılama olarak bilinmekte olup, enfeksiyon temelli hastalıklardan korunmak maksadıyla uygulanacak aşılamanın oluşacak hastalığın büyüklüğünü ve insidensini hafifleteceği belirtilmektedir (Quinn vd., 1994).

Bu tez çalışmasında Sığır pnömonilerine sebep olan en önemli bakteriyel etkenlerden biri olan *Pasteurella* türlerini izole ve identifiye ederek tedavide en doğru yaklaşım olan antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek amaçlanmıştır.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada Kütahya ilindeki kesimhanelerde kesilen sığırların akciğerlerinden *Pasteurella* spp.'nin izolasyonu için 210 örnek toplandı (Çizelge 2.1). Toplanan örnekler steril numune kaplarında soğuk zincirde Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Teşhis ve Analiz Laboratuvarına getirildi. (Resim 2.1.)



Resim 2.1 : Steril numune kaplarında akciğer doku örnekleri

Çizelge 2.1 : Alınan örneklerin yaşa ve cinsiyete göre dağılımı

Örnek	Klinik görünüm		Dişi			Erkek		
	Sağlıklı	Hasta	1 yaş altı (n) (%)	1-4 yaş (n) (%)	5-8 yaş ve üzeri (n) (%)	1 yaş altı (n) (%)	1-4 yaş (n) (%)	5-8 yaş ve üzeri (n) (%)
Akciğer	210	-	-	-	50 23,8	-	150 71,43	10 4,77

2.1.2. Antibiyotik Diskleri

Sığırlardan izole edilmiş olan *P. multocida* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarını tespit etmek için, Amoksisilin-Klavulanik Asit (30 µg, Oxoid), Tetrasiklin (30 µg, Oxoid), Danofloksasin (5 µg, Oxoid), Siprofloksasin (5 µg, Oxoid), Seftiofur (30 µg, Oxoid), Enrofloksasin (5 µg, Oxoid), Sulfametoksazol-Trimetoprim (20 µg, Oxoid) antibiyotik disklerinden yararlanıldı.

2.1.3. Besiyerleri Ve Solusyonlar

Kanlı Agar Base (Fluka 70133)

Meat extract	10,0 g
Peptone	10,0 g
NaCl	5,0 g
Agar	10,0 g
Distile su	1000 ml

(25 °C pH 7,3±0,2)

Karışım 40 g/L şeklinde hazırlanıp 121 °C'de 1 atmosferik basınçta 15 dakika otoklavda sterilize edildi. Sterilizasyon işlemi sonrasında 50 °C'ye kadar soğutuldu. Karışımın içerisine %7 oranında koyun kanı eklendi. Steril petri kutularına dökülüp, +4 °C de muhafaza edildi.

MacConkey Agar (Merck 1.05465)

Peptone	20,0 g
Lactose	10,0 g
Bile salts	1,5 g
NaCl	5,0 g
Agar	13,5 g
Neutral red	0,03 g
Crystal violet	0,001 g
Distile su	1000 ml
(25 °C pH 7,4±0,2)	

Karışım 52 g/L şeklinde hazırlanıp karışım 121 °C de 1 atmosferik basınçta 15 dakika otoklavda sterilize olması sağlandı. Sterilizasyon işleminden sonra 50 °C'ye kadar soğutulup, 12 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek +4 °C de muhafaza edildi.

Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck 1.05459)

Pancreatic digest of casein	17,0 g
Enzymatic digest of soya bean	3,0 g
NaCl	5,0 g
Na ₂ HPO ₄	2,5 g
Glucose	2,5 g
Distile su	1 L
(25 °C pH 7,3 ±0,2)	

Karışım 30 g/L olarak hazırlandı. Her tüpte 5 ml olarak hazırlanıp 121°C'de 1 atmosferik basınçta 15 dakika otoklavda sterilize olması sağlandı.

Nutrient Soy Broth (NB) (Merck 1.05443)

Peptone	5,0 g
Meat extrat	3,0 g
Distile su	1 L
(25 °C pH 7,0 ±0,2)	

Karışım 8 g/L olarak hazırlandı. Her tüpte 5 ml olarak hazırlanıp 121 °C'de 1 atmosferik basınçta 15 dakika otoklavda sterilize olması sağlandı.

Eozin Metilen Blue (EMB) Agar (Oxoid, CM0069)

Peptone	10,0 g
Laktoz	10,0 g
Dipotassium hydrogen phosphate	2,0 g
Eozin Y	0,4 g
Metilen Blue	0,065 g
Agar	15 g
Distile su	1 L
(25 °C pH 6,8±0,2)	

Çözelti 37,5 g/L olarak hazırlandı. Hazırlanan karışımın 121 °C'de 1 atmosferik basınçta 15 dakika otoklavda sterilize olması sağlandı. Sterilizasyon işleminden sonra 50 °C'ye kadar soğutulup, 12 cm çapındaki steril petri kutularına dökülerek +4 °C de muhafaza edildi.

Çözelti Ve Ayıraçlar

Fizyolojik Tuzlu Su (FTS): 8.76 gr NaCl, distile su içinde çözdürüldü ve 1 lt'ye tamamlandı (Lenette vd., 1985).

Oksidaz Test Kiti: Bakteri izolatlarında oksidaz reaksiyonunu saptamak için Microbact™ Oxidase Strips (Oxoid, MB0266A) kullanıldı.

Katalaz Test Kiti: İzole edilen suşların katalaz reaksiyonlarının belirlenmesinde %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanıldı.

2.1.4. Otomatize Sistemler

Elde edilen izolatların identifikasyonu için ve konfirmasyonu amacıyla Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Teşhis ve Analiz Laboratuvarındaki otomatize VITEK 2 sistemi kullanıldı (Resim 2.2).

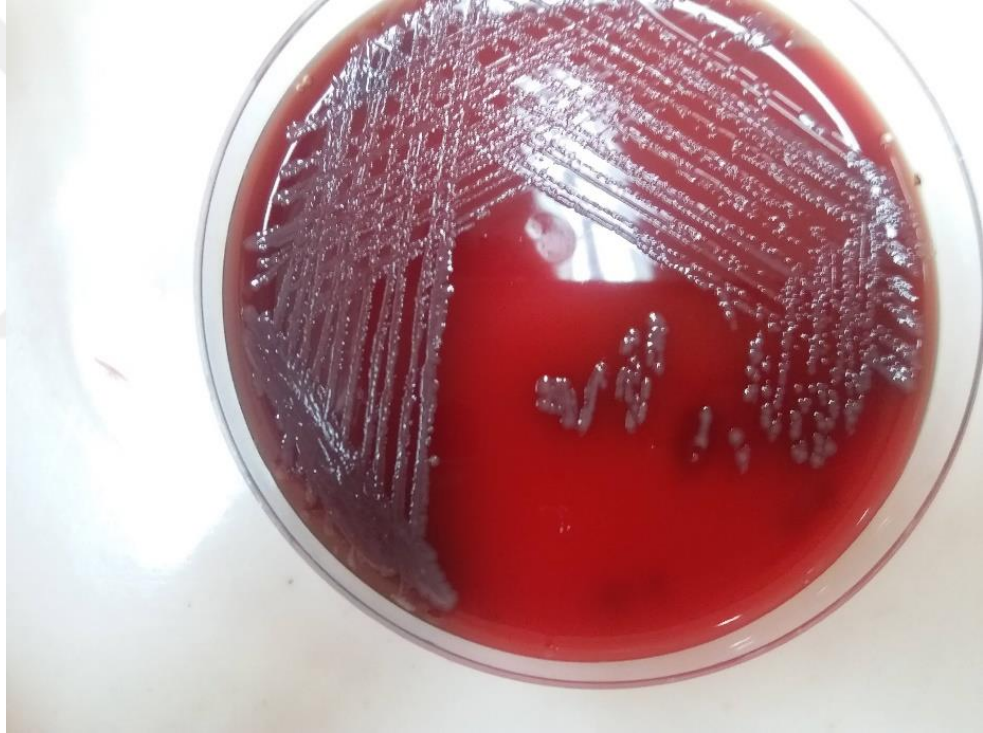


Resim 2.2 : Otomatize Vitek 2 sistemi

2.2. Yöntem

2.2.1. İzolasyon Ve İdentifikasyon

Akciğer doku örneklerinden kanlı agarlara ekimler gerçekleştirildi ve 37 °C'de 24-48 saat süreyle inkübasyonu sağlandı. Üreyen kolonilerin morfolojik özellikleri ve hemoliz özellikleri incelendi. Elde edilen koloniler Gram boyama ile boyandı. (Aydın, 2006; Garrity vd., 2004; Quinn vd., 2004).



Resim 2.3 : Doku örneklerinden ekim yapılmış bir kanlı agar örneği

2.2.1.1. Eosin Methylene Blue Agarda Üreme

Akciğer doku örneklerinden EMB agara ekimler yapıldı ve 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra üreyen kolonilerin özellikleri değerlendirildi (Mutter vd., 1989).

2.2.1.2. MacConkey Agarda Üreme

Akciğer doku örneklerinden MacConkey agara ekimler yapıldı ve 37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra MacConkey agardaki koloni durumu değerlendirildi (Mutter vd., 1989).

2.2.1.3. Gram Boyama

Lam üzerine bir damla FTS damlatılıp kültürden bir bakteri kolonisi alındı ve lam üzerinde yayıldı. Hazırlanan preparat kurutulup üzerine kristal viyoleto döküldü ve 3 dk bekletildi. Preparat distile su ile yıkanıp üzerine lugol solüsyonu döküldü ve 1 dk bekletildi. Tekrar distile su ile yıkanan preparat etil alkol ile dekolorize edildi. Preparat tekrar yıkanıp üzerine safranin solüsyonu döküldü ve 10 sn bekletildi. Süre sonunda preparat distile su ile yıkandı, kurutuldu ve sedir yağı konularak immersiyon objektifte incelendi. Pembe renkli görünen bakteriler Gram negatif olarak belirlendi (Arda, 2011).

2.2.1.4. Oksidaz Testi

Bakterilerde oksidaz aktivitesini saptamak amacıyla oksidaz diskinden (Bacto, 1633-35-2) yararlanıldı. Kanlı agarda üreyen kolonilerden öze yardımıyla oksidaz test striptine yayıldı. Test striptininin 10-15 saniye süre içerisinde kırmızı-mor renk olması pozitif (Resim 6), rengin değişmemesi

“negatif” olarak yorumlandı (Arda, 2006).

2.2.1.5. Lamda Katalaz Testi

Mueller –Hinton agarda üreyen kolonilerden öze yardımıyla lam üzerine konuldu ve üzerine bir damla H₂O₂ (hidrojen peroksit) damlatıldı. Kabarcıkların oluşması pozitif olarak belirlendi (Arda, 2006).

2.2.1.6. Vitek 2 Sistemi İle İdentifikasyon

Kanlı agarda inkübasyondan sonra üreyen kolonilerin hemoliz özellikleri incelendi. Gram negatif, *Pasteurella* şüpheli koloniler oksidaz ve katalaz reaksiyonları ile MacConkey agar ve EMB agarda üreme durumlarına göre seçilerek, şüpheli izolatların kesin identifikasyonları Vitek 2 cihazı Gram negatif identifikasyon kiti (Resim 2.4) kullanılarak gerçekleştirildi.



Resim 2.4 : Vitek 2 cihazı Gram negatif identifikasyon kiti

2.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testi

İzolasyonu ve identifikasyonu sağlanan *P. multocida* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının tespiti Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) ve Avrupa Birliği Antimikrobiyal Duyarlılık Test Komitesi (EUCAST) standartları kapsamında kanlı agarda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle yapıldı (CLSI, 2018; EUCAST, 2020).

Kanlı agarda inkübasyon sonucu oluşan koloniler Mac Farland Tüp No.5 bulanıklığında FTS ile hazırlandı. Karışımdan 0,1 ml olarak kanlı agara aktarıldı. Antibiyotik diskleri steril pens ile agara yerleştirildi ve 37 °C'de 18-24 saat inkübasyon için bırakıldı. İnkübasyondan sonra disklerin çevresindeki zon çapları mm cinsinden ölçülerek, CLSI ve EUCAST standartlarına göre yorumlandı.

3.BULGULAR

3.1. İzolasyon Ve İdentifikasyon Bulguları

Mezbahada kesilen sığırlardan elde edilen 210 akciğer örneğinin 89'undan Gram negatif bakteri izolasyonu gerçekleştirildi. İzole edilen bu bakterilere oksidaz ve katalaz testleri uygulanırken, bakterilerin kanlı agarda hemoliz özellikleri ile MacConkey ve EMB agarlarda üreme özellikleri test edildi.

Buna göre 89 Gram negatif bakteriden 17'si *Pasteurella* türleri yönünden şüpheli olarak değerlendirildi.

Çizelge 3.1: Sığır akciğeri örneklerinden *P. multocida* identifikasyonu

Örnek	İzole edilen <i>Pasteurella multocida</i> suşları								Genel Toplam	
	Klinik görünüm		Dişi			Erkek				
	Sağlıklı	Hasta	1 yaş altı	1-5 yaş	5-8 yaş ve üzeri	1 yaş altı	1-5 yaş	5-8 yaş ve üzeri	(n)	(%)
Akciğer	2	-	-	-	2	-	-	-	2	100

3.2. *P. multocida* Suşlarının Biyokimyasal Özellikleri

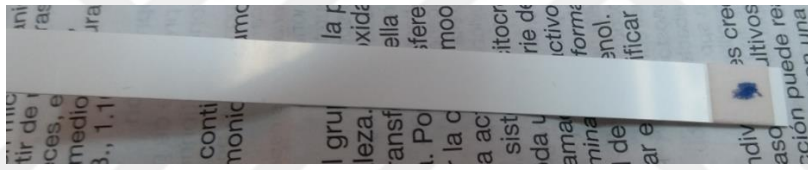
Elde edilen *P. multocida* suşları kanlı agarda hemoliz göstermedi. Katalaz pozitif ve oksidaz pozitif olarak bulundu. *P. multocida* suşlarının MacConkey agarda üremediği, EMB agarda ise üreme olduğu ancak metalik yeşil renk vermediği gözlemlendi. Elde edilen *P. multocida* suşlarının çeşitli özellikleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.



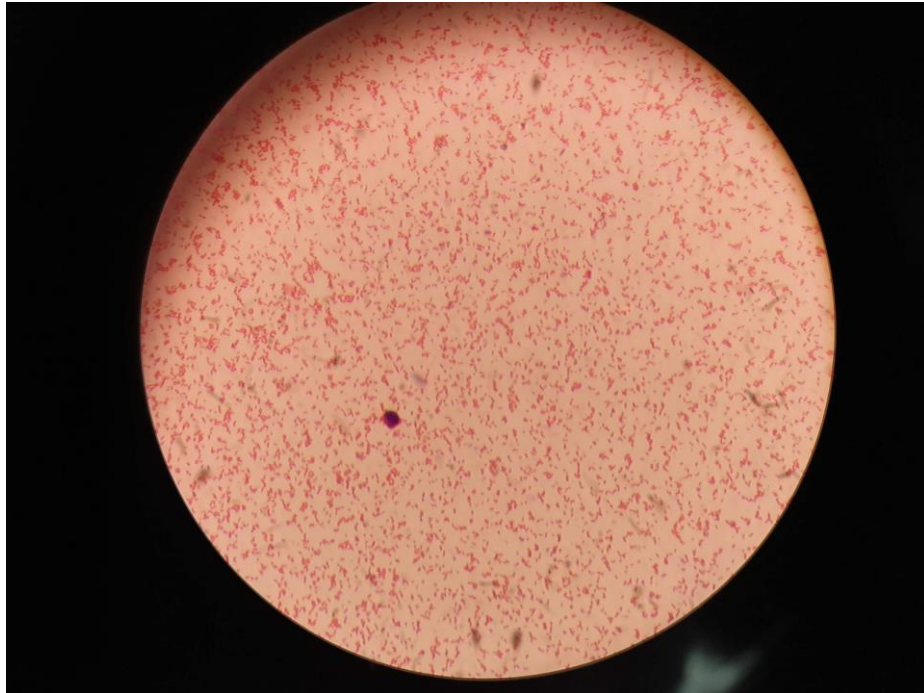
Resim 3.1 : Ekim yapılmış petriler

Çizelge 3.2 : İdentifiye edilen *P. multocida* biyokimyasal özellikleri

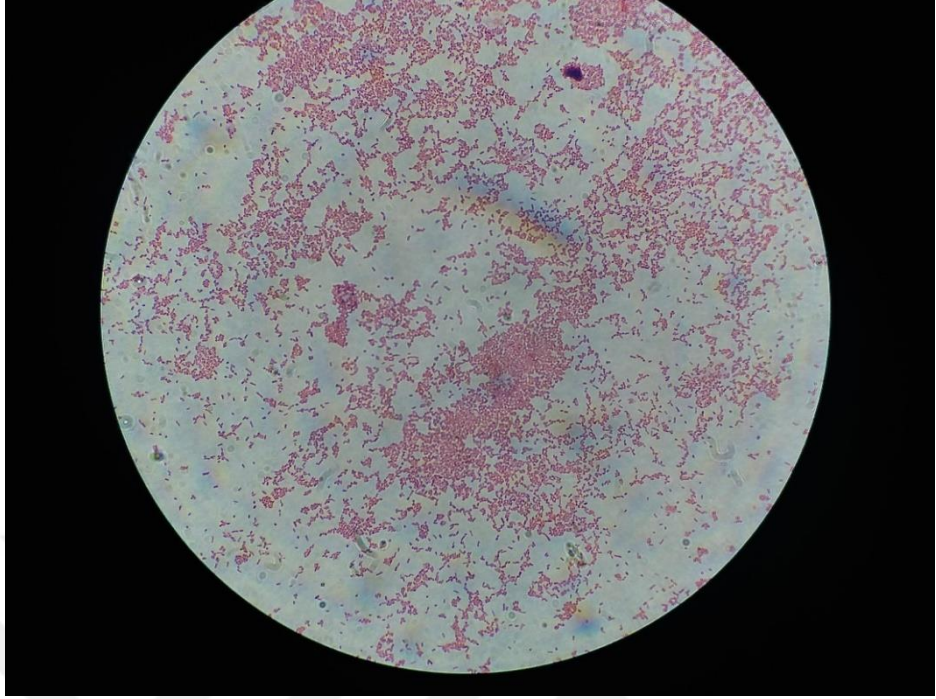
Biyokimyasal Özellikler	<i>P. multocida</i>
Gram Boyama	-
Oksidaz	+
Katalaz	+
Hemoliz (Kanlı Agar)	-
MacConkey Agar	-
EMB Agar	-



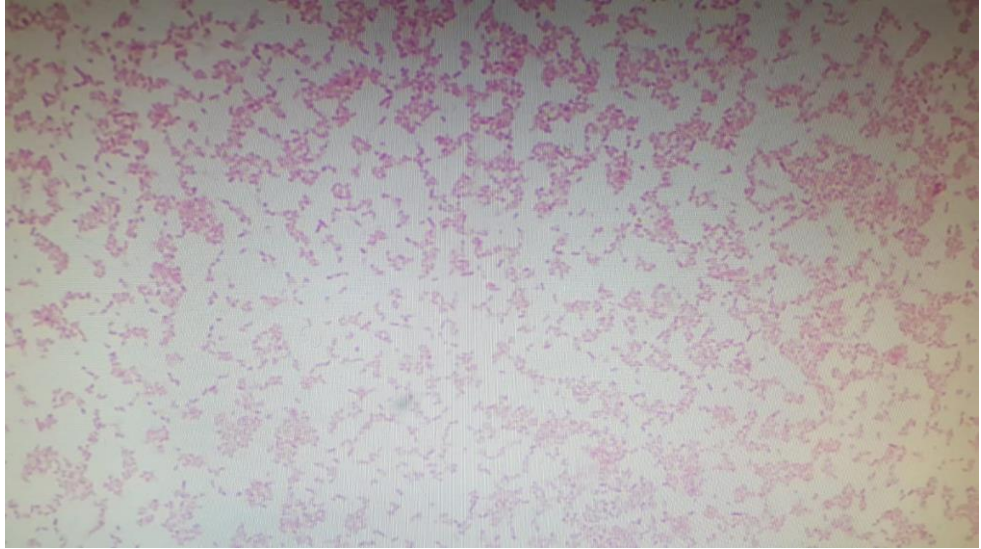
Resim 3.2: Oksidaz test striptinde pozitif sonuç



Resim 3.3a : Mikroskopta Gram negatif kokoid çomaklar



Resim 3.3b : Mikroskopta Gram negatif kokoid çomaklar



Resim 3.3c: Mikroskopta Gram negatif kokoid çomaklar

3.3. Vitek İdentifikasyon Bulguları

Klasik kültürel yöntemler kullanılarak şüpheli olarak belirlenen 17 *Pasteurella* izolatın kesin identifikasyonu Vitek 2 otomatize sistem kullanılarak gerçekleştirildi. Buna göre 17 şüpheli izolatın 2'si *P. multocida* olarak identifiye edildi.

AKU VETERİNER FAKULTESİ GIDA KONTROL LAB

bioMerieux Müşterisi: Laboratuvar Raporu 30.Tem.2019 21:35 GMT+02:00 sayfa yazdırıldı
Sistem No: Yazdırılan: zk
Rapor Sürümü: 2 of 2

İzolat Grubu: 201 S Mehmet-1
Kart Türü: GN Test Cihazı: 000014EEB914 (ENFEKSIYOZ)

Biyonumara: 0000010110040001
Organizma Miktarı:

Yorumlar:

İdentifikasyon Bilgileri	Kart: GN	Lot No: 2410968103	Son Kullanım Tarihi: 21.Tem.2020 12:00 GMT+02:00
	Tamamlandı: 30.Tem.2019 21:47 GMT+02:00	Durum: Son	Analiz Zamanı: 10,25 saat

Seçilen Organizma: 98% Olasılık *Pasteurella multocida*
Biyonumara: 0000010110040001 Uyum: Düşük ayrım

SRF Organizması:

Ayrılacak Analiz Organizmaları ve Testler:
Low Discrimination Organism
Pasteurella canis dMANNITOL(10),
Pasteurella multocida dMANNITOL(89).

Analiz Mesajları:

Uyumsuz Olan Tipik Biopattern(ler)

Biyokimyasal Detaylar

2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	-	5	IARL	-	7	dCEL	-	9	BGAL	-
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	-	14	GGT	-	15	OFF	-
17	BGLU	-	18	dMAL	-	19	dMAN	-	20	dMNE	+	21	BXYL	-	22	BAIap	-
23	ProA	-	26	LIP	-	27	PLE	-	29	TyrA	+	31	URE	-	32	dSOR	-
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	-	36	CIT	-	37	MNT	-	39	5KG	-
40	ILATK	-	41	AGLU	-	42	SUCT	-	43	NAGA	-	44	AGAL	-	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	-	53	IHISa	-	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	O129R	-	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	+	64	ILATa	-			

Yükü VITEK 2 Systems Sürümü: 07.01
MIK Yorum Rehberi:
AES Parametre Seti Adı:

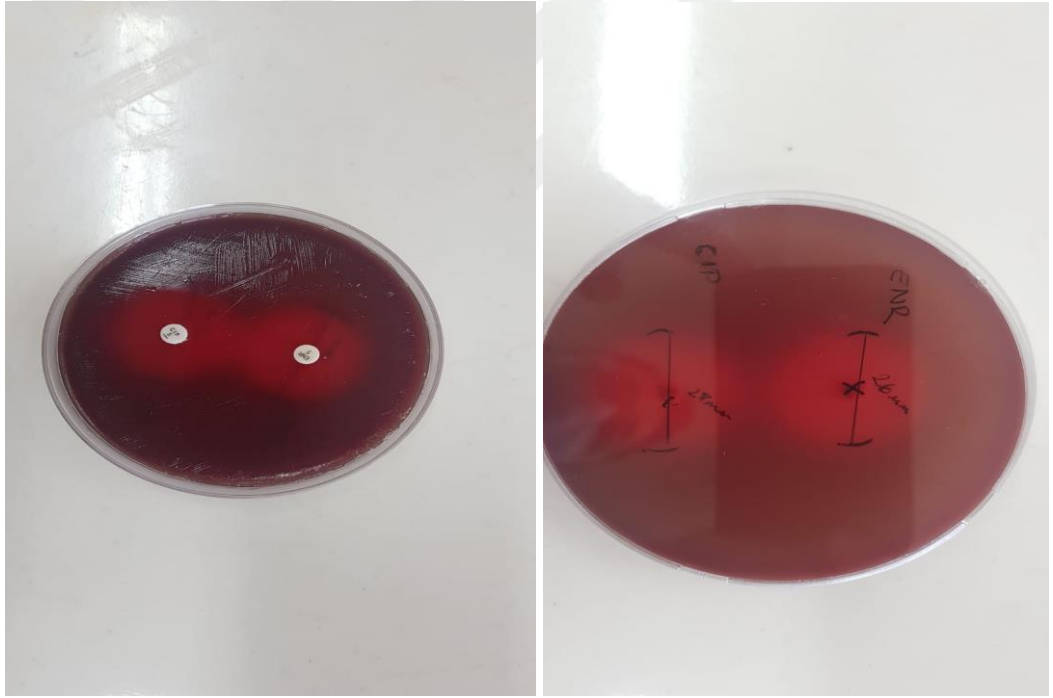
Terapötik Yorum Rehberi:
AES Parametresinin Son Değiştirilme Tarihi:

Sayfa 1 / 1

Resim 3.4: Vitek 2 sistemi ile identifikasyon sonucu

3.4. *P. multocida* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

İdentifiye edilen 2 *P. multocida* suşunun antibiyotik duyarlılıklarının tespiti Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle yapıldı. Suşların Amoksisilin klavulanik asit, Enrofloksasin, Siprofloksasin ve Seftiofur'a %100 oranında duyarlı, Danofloksasin'e %50 duyarlı ve %50 artırılmış dozajda duyarlı olduğu gözlemlenirken, Sülfametaksazol-trimetoprim ve Tetrasiklin'e %100 oranında dirençli olduğu tespit edildi. İzolasyonu ve identifikasyonu sağlanan *P. multocida* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları Çizelge 3.3.'de gösterilmiştir.



Resim 3.5 : Disk difüzyon yöntemi ile Antibiyotik duyarlılıkların tespit edilmesi

Çizelge 3.3 : İzole edilen *Pasteurella multocida* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

Antibiyotikler	Antibakteriyel Duyarlılık Dereceleri					
	R		I		S	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
Amoksisilin-Klavulanik Asit					2	100
Danofloksasin			1	50	1	50
Enrofloksasin					2	100
Siprofloksasin					2	100
Seftiofur					2	100
Sulfametaksazol-Trimetoprim	2	100				
Tetrasiklin	2	100				

* R: Dirençli I: Duyarlı, Artmış maruziyette S: Duyarlı

4.TARTIŞMA

Pasteurella enfeksiyonları gerek ülkemizde gerek dünyada ekonomik olarak büyük bir öneme sahiptir. Ruminantların solunum sistemi hastalıkları; yetiştiriciler için fiziksel güç ve verim kaybıyla birlikte ölümlere ve tedavi masrafları sebebiyle büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (De Alvis, 1999). Amerika Birleşik Devletleri'nde sığırların solunum sistemi hastalıkları nedeniyle hayvan başı tedavi masrafının 15,57 dolar (Snowder vd., 2006) ve yılda 640 milyon dolardan fazla ekonomik kaybın olduğu bildirilmiştir (Bowland ve Shewen, 2000). Hayvancılık sektöründe önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Jesse vd., 2019). Hastalığın ortaya çıkışında bakteri, virüs ve parazit gibi etiyolojik ajanlar ile beslenme noksanlığı, iklimsel değişiklik, olumsuz barınak şartları, nakil gibi çeşitli çevresel etkenler de bulunmaktadır (Jesse vd., 2019).

Enfeksiyonların hızlı ve doğru bir şekilde teşhis edilmesi hem tıp hem de veteriner hekimlik alanında kritik olduğu kadar enfeksiyonu kontrol etmede daha iyi önlemlerin alınması için de önemlidir (Kessel, 2015).

Pasteurollozis, dünyada birçok ülkede görülen konakçı çeşitliliği çok geniş bir enfeksiyondur. Ruminantların solunum sistemi enfeksiyonlarından oldukça yüksek oranda *P. multocida* ve *M. haemolytica*'nın izole edildiği bazı çalışmalarda (Yates, 1982; Davies, vd., 2004; Boyce vd., 2010) bildirilmiştir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada (Karahan vd., 2020) pnömoni semptomları gösteren 100 adet sığırdan akciğer örnekleri alınmış olup; örneklerin identifikasyonu klasik yöntemler ve Vitek cihazı ile sağlanmıştır. İzolasyonu ve identifikasyonu sağlanan 58 örneğin %13'ünde *P.multocida* identifiye edilmiştir.

Elazığ'da yapılan bir çalışmada (Kılıç vd., 2004) 8222 adet sığırdan alınan akciğer örneklerinden 500'ünde pnömoni tablosu tespit edilmiş olup;

bakteriyolojik ve biyokimyasal yöntemler sonucu 30 (%6) örnekte *P.multocida* identifiye edilmiştir.

Pnömonili buzağuların akciğerlerinden yapılan bir araştırmada izole edilen *Pasteurella* türlerinin oranını %18 olarak rapor etmişlerdir (Girgin vd.,1989). Başka bir çalışmada pnömoni lezyonlu 100 buzağı akciğer doku örneğinin 8'inde *P. multocida* izole edilebildiğini bildirmişlerdir (Hazıroğlu vd.,1997).

Erzurum'da tatbik edilen bir çalışmada pnömoni semptomlu sığırlardan %4,5 oranında *P. multocida* izolasyonunun sağlandığı bildirilmiştir (Dinler, 1998). Başka bir araştırmadan elde edilen sonuçlarda *P. multocida* izolasyonu %15,9 olarak bildirilmiştir (Gündüz ve Erganiş, 1998).

Başka bir çalışmada 61 adet pnömonili buzağı akciğerinin 18 (%29,5)'inde *P. multocida* tespit edildiği bildirilmiştir (Madsen vd., 1985). Yine bir araştırmada pnömoni tablolı sığırların akciğerlerinden *P. multocida* izolasyonun oranı %6 olarak bildirilmiştir (Houghton ve Gourlay, 1984). Başka bir çalışmada pnömoni sebebiyle ölmüş ya da kesilmiş buzağuların akciğerlerinden %15,8'inde *P. multocida* tespit edildiği bildirilmiştir (Allan vd., 1985). Danimarka'da yapılan bir çalışmada (Tegtmeier vd., 1999) pnömoni tablosuna sahip buzağılarda 72 doku örneğinin 10 (%13,8)'undan *P. multocida* izolasyonunun sağlandığı bildirilmiştir.

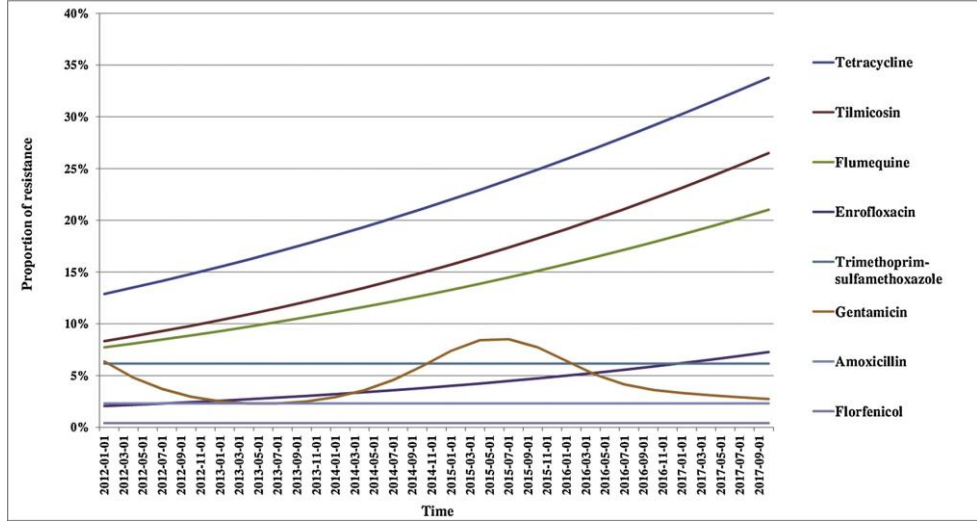
1994-2002 yılları arasındaki bir çalışmada pnömonili buzağılardan *P. multocida* izolasyonun %34,7 olduğu ve bu izolasyon oranının yıllar bazında değişiminin %20-%47,4 olarak bildirmişlerdir (Welsh vd., 2004). Solunum sistemi enfeksiyonu semptomları gösteren 99 adet buzağıda yapılan bir çalışmada *P. multocida* izolasyon oranının %19,1 olduğu bildirilmiştir (Gagea vd., 2006).

Bu araştırmada mezbahalarda kesilen klinik olarak sağlıklı görümlü sığırlardan alınan 210 akciğer örneklerinden 2 *P. multocida* suşu identifiye

edildi. Bu oran (%0,95) diğer araştırmacıların elde ettikleri sonuçlarla karşılaştırıldığında oldukça düşüktü. Pastörellozisin yayılması genellikle bölgesel farklılıklar göstermektedir. Bunun sebebi olarak iklimsel değişiklikler, mevsim dönemleri, transport, yaş ve ırk farklılıkları, kemoterapötik kullanımı, stres faktörleri, bireysel dirençlilik, beslenme durumu ve ortamın hijyen şartları gibi faktörlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. *P. multocida* izolasyonunun yüksek olduğu araştırmalarda (Tegtmeier vd., 1999; Welsh vd., 2004; Catry vd., 2006; Gagea vd., 2006; Nikunen vd., 2007; Autio vd., 2007) örnek sayılarının genelde düşük olup, çalışmaların belirli sayıda popülasyonda yapıldığı görülmektedir. Ayrıca diğer çalışmalarda örnekler genellikle pnömonili hayvanlara aitken, bu çalışmada örnekler klinik olarak sağlıklı görünümlü hayvanlara aitti.

Hayvanlarda *P. multocida*'dan ileri gelen hastalıkların tedavisinde en çok kullanılan veteriner hekimlik ürünleri antibiyotiklerdir. Solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılan başlıca antibiyotikler arasında birinci kuşak antibiyotiklerin yanında florokinolonlar gibi kritik öneme sahip antibiyotikler de yer almaktadır (Evira, 2018).

Fransa'da 2012-2017 yılları arasında yapılan bir çalışmada (Bourély vd., 2019) sığırlardan elde edilen *P. multocida* izolatlarının antibiyotik dirençliliklerinin zamana göre değişimi izlenmiş; (Resim 4.1) tetrasiklin, tilmikosin, flumekuın ve enrofloksasin direnç eğilimlerinin dönem boyunca arttığı, ancak sülfametaksazol-trimetoprim, amoksisilin ve florfenikol direnç oranlarının değişmediği gözlemlenmiştir.



Resim 4.1 : Üçer aylık zaman periyodlarında (dönem başına en az 25 izolat) 2012-2017 yılları arasında sığırlardan elde edilen *P. multocida* izolatlarında antibiyotik direnç eğilimleri. (Bourély vd., 2019)

Türkiye’de yapılan bir çalışmada (Gülaydın vd., 2019) 59 adet *P. multocida* izolatının ampisilin, sefotaksim, enrofloksasin, kloramfenikol, penisilin, sefalotin ve gentamisine karşı duyarlı olduğu gözlenirken, tetrasiklin, eritromisin, sülfametaksazol-trimetoprim, siprofloksasin, streptomisin ve tilmikosine karşı antibiyotik direncinin geliştiği görülmüştür.

Bazı araştırmalarda bilinçsiz antibiyotik kullanımı sonucu *P. multocida*’nın beta-laktamlar, tetrasiklin, streptomisin, sülfonamidler, makrolidler ve sülfametazine karşı çoklu ilaç direnci geliştirdiği ortaya çıkmıştır (Kehrenberg vd., 2003; Anholt vd.,2017).

P. multocida’nın antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi amacıyla yapılan bazı araştırmalar ve sonuçları tabloda görülmektedir. Çizelge 4.1’e göre son yıllarda yapılan çalışmalarda etkenin florokinolonlara, sefalosporinlere ve etkisi güçlendirilmiş penisilinlere karşı duyarlı olduğu, tetrasiklinlere, aminoglikozitlere, makrolidlere ve penisilinlere dirençli olduğu görülmektedir. Bu yapılan çalışmada ise *P. multocida* suşlarının Amoksisilin klavulanik asit, Enrofloksasin, Siprofloksasin ve Seftiofur’a %100 oranında duyarlı, Danofloksasin’e ise %50 duyarlı ve %50 artırılmış dozajda duyarlı olduğu gözlemlenirken, Sülfametaksazol-trimetoprim ve Tetrasiklin’e %100 oranında dirençli olduğu tespit edilmiş olup son yıllardaki yapılan

çalışmalarla uyumlu olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.1: *P.multocida*'nın antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için yapılan bazı çalışmalar

ARAŞTIRMACILAR	ANTİBİYOTİK	SONUÇ	DİRENÇ/ DUYARLILIK
El Garch vd., 2016	Enrofloksasin ve Tetrasiklin		DİRENÇLİ
Khamesipour vd., 2014	Siprofloksasin, Ko-trimoksazol, Doksisisiklin, Enrofloksasin, Nitrofurantoin ve Tetrasiklinler		DUYARLI
	Ampisilin, Lincomisin, Penisilin, Rifampin, Streptomisin, Amoksisilin, Eritromisin ve Florfeniol		DİRENÇLİ
Güler vd., 2013	Seftiofur, Enrofloksasin, Trimethoprim-sulfametoksazol, Florfenikol		DUYARLI
	Tetrasiklin, Tilmikosin, Eritromisin, Spektinomisin		DİRENÇLİ
Ülker vd., 2012	Amoksisilin, Amoksisilin + Klavulanik asit, Trimethoprim + Sulfametoksazol, Enrofloksasin ve Penisilin-G	100%	DUYARLI
Rerat vd., 2012	Tylosin	83%	DİRENÇLİ
Konak, 2012	Tilmikosin	56%	DİRENÇLİ
	Florfenikol	95%	DUYARLI
	Seftiofur	93%	DUYARLI
	Amoksisilin-Klavulanik Asit	91%	DUYARLI
	Gentamisin ve Tulatromisine	89%	DUYARLI
	Oksitetrasiklin	22%	DİRENÇLİ
	Penisilin G ve Eritromisin	20%	DİRENÇLİ
Önat vd., 2010	Sülfametoksazol-Trimetoprim	92%	DUYARLI
	Enrofloksasin	85%	DUYARLI
Öztürk ve Civelek, 2007	amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin, oksitetrasiklin, amoksisilin, neomisin	100%	DUYARLI
Erbaş, 2007	Trimetoprim sulfametaksazol	80%	DUYARLI
	Florfenikol	93%	DUYARLI
	Enrofloksasin	61%	DUYARLI
	Eritromisin, Sülfametoksazol-Trimetoprim	82%	DİRENÇLİ
Öztürk ve Çorlu, 2006	Oksitetrasiklin	88%	DUYARLI
	Ampicilin	94%	DUYARLI
	Enrofloksasin, Florfenikol		DUYARLI
Yoshimura vd., 2001	Enrofloksasin ve Seftiofur Dihidrostreptomisin ve Benzilpenisilin		DUYARLI DİRENÇLİ

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması sığırlarda *Pasteurella* spp. 'nin izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarını tespit etmek için yapılmıştır.

Çalışmada sığırlardan toplanan 210 akciğer örneğinden *Pasteurella* spp. 'nin izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla 89 adet Gram negatif bakteri izole edildi. Kültür ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak 17 örnek *Pasteurella* şüpheli bulundu. İzolatların identifikasyonunda konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra otomatize sistemler kullanıldı ve örneklerin 2 (%0,95)'sinden *P. multocida* identifiye edildi.

Bu çalışmada elde edilen sonuçların diğer araştırmalarla karşılaştırıldığında oldukça düşük oranda olduğu gözlemlendi. Bu çalışmada diğer araştırmalardan farklı olarak, kullanılan örneklerin klinik olarak sağlıklı görümlü sığırlardan toplanması en önemli sebep olduğu gözlemlendi. Ayrıca izolasyonun yüksek olduğu bazı araştırmalarda kullanılan örnek sayılarının düşük olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmalar sonucunda izole ve identifiye edilen 2 *P. multocida* suşunun antimikrobiyal duyarlılıkları Kirby-Bauer Disk Diffüzyon Yöntemi ile tespit edildi. *P. multocida* suşunun Amoksisilin klavulanik asit, Enrofloksasin, Siprofloksasin ve Seftiofur'a %100 oranında duyarlı, Danofloksasin'e ise %50 duyarlı %50 artırılmış dozajda duyarlı olduğu gözlemlenirken, Sülfametaksazol-trimetoprim ve Tetrasiklin'e %100 dirençli olduğu tespit edildi. Bu tez çalışmasında tespit edilen bulguların *Pasteurella* spp.'ne yönelik yapılacak başka araştırmalara ve *Pasteurella* enfeksiyonlarının sağaltımında kullanılacak antibiyotiklerin seçiminde katkıda bulunabileceği kanaatine varıldı.

6.KAYNAKLAR

- Aida, Y., Kiwamoto, T., Fujita K., Ishikawa, H., Kitazawa, H., Watanabe, H., & Hizawa, N. (2019). *Pasteurella multocida* pneumonia with hemoptysis: A case report. *Respiratory medicine case reports*, 26, 31-34.
- Ali, H. A. H., Sawada, T., & Noda, K. (2004). Protectivity of an Immunoaffinity-Purified 39kDa Capsular Protein of Avian *Pasteurella multocida* in Mice. *Journal of Veterinary Medical Science*, 66(12), 1603-1604.
- Allan, E.M., Wiseman, A., Gibbs, H.A., Selman, I.E. (1985). *Pasteurella* species isolated from the bovine respiratory tract and their antimicrobial sensitivity patterns. *Vet. Rec.*, **117**: 629-631.
- Angen, O., Mutters, R., Caugant, D. A., Olsen, J. E., & Bisgaard, M. (1999). Taxonomic relationships of the [*Pasteurella*] haemolytica complex as evaluated by DNA-DNA hybridizations and 16S rRNA sequencing with proposal of *Mannheimia haemolytica* gen. nov., comb. nov., *Mannheimia granulomatis* comb. nov., *Mannheimia glucosida* sp. nov., *Mannheimia ruminalis* sp. nov. and *Mannheimia varigena* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(1), 67-86.
- Anholt, R.M., Klima, C., Allan, N., Matheson-Bird, H., Schatz, C., Ajitkumar, P., Otto, S.J., Peters, D., Schmid, K., Olson, M. And Mcallister, T. (2017). Antimicrobial susceptibility of bacteria that cause bovine respiratory disease complex in Alberta, Canada. *Frontiers in Veterinary Science*, 4, 207.
- Autio T, Pohjanvirta T, Holopainen R, Rikula U, Pentikainen J, Huovilainen A, Rusanen H, Soveri T, Sihvonon L, Pelkonen S (2007). Etiology of respiratory disease in non-vaccinated, non-medicated calves in rearing herds. *Veterinary microbiology*, 119(2-4), 256-265.

Arda, M. (2006). Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınları, Ankara.

Arda, M. (2011). Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayınları, Ankara.

Aydın, N (2006). *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.

Ayhan, K. (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 S 07. Bölüm

Bain, R. V. S., De Alwis, M. C. L., Carter, G. R., & Gupta, B. K. (1982). Haemorrhagic septicaemia [of Bovidae]. *FAO Animal Production and Health Papers (FAO)*.

Barbour, E. K., Nabbut, N. H., Hamadeh, S. K., & Al-Nakhli, H. M. (1997). Bacterial identity and characteristics in healthy and unhealthy respiratory tracts of sheep and calves. *Veterinary research communications*, 21(6), 421-430.

Blackall, P.J., Asiah, N.M., Ramlan, M., Maria, J., Yuslan, S., Thong, K.L. (2011). Capsular serotyping of *Pasteurella multocida* from various animal hosts-a comparison of phenotypic and genotypic methods. *Tropical Biomedicine*, 28(1), 55-63.

Boot, R., Van den Brink, M., Handgraaf, P., & Timmermans, R. (2004). The use of the API 20 NE bacteria classification procedure to identify *Pasteurellaceae* strains in rodents and rabbits. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Sciences*, 31(3), 177-183.

Bote, Y., Legesse, K., Shawul, G., & Tassew, A. (2017). Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* from cattle with hemorrhagic

septicemia in Assosa and Bambasi districts, Benishangul Gumuz Regional state, Ethiopia.

Bourelly, C., Cazeau, G., Jouy, E., Haenni, M., Madex, J. Y., Jarrige, N., Gay, E. (2019). Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* isolated from diseased food-producing animals and pets. *Veterinary microbiology*, 235, 280-284.

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

Boyce, J.D., Haerper, M., Wilkie, I.W., Adler, B. (2010). *Pasteurella*. *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. 325-337.

Catry, B., Decostere, A., Schwarz, S., Kehrenberg, C., De Kruif, A., Haesebrouck, F. (2006). Detection of tetracycline-resistant and susceptible *Pasteurellaceae* in the nasopharynx of loose group-housed calves. *Vet. Res. Commun.*, 30: 707- 715.

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

Christensen, H., Bisgaard, M., Angen, Q., Frederiksen, W., Olsen, J.E., (2005). Characterization of sucrose-negative *Pasteurella multocida* variants, including isolates from large-cat bite wounds. *Journal of clinical microbiology*, 43(1), 259-270.

CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals*. 4th ed. CLSI supplement VET08. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

- Çetinkaya, B. (1998). Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Pcr) Temel Prensipleri. *F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*. 12: 149-156.
- Dabo, S. M., Taylor, J.D., Confer, A.W. (2007). *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Anim. Health. Res. Rev.*, 8: 129-50.
- Davies, R. L., Maccorquodale, R., Reilly, S. (2004). Characterisation of bovine strains of *Pasteurella multocida* and comparison with isolates of avian, ovine and porcine origin. *Vet. Microbiol.*, **99**: 145-158.
- De Alvis, M. C. L. (1999). Haemorrhagic septicaemia. Australian Centre For International Agricultural Research. Aciar Monograph, Australia. 1-141.
- De Jong, M.F. (1999). Progressive and nonprogressive atrophic rhinitis. Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L., Taylor, D.J. *Diseases of swine*. Iowa State University Press, Iowa. 355-384.
- Dinler, U. (1998). Pnömonili sığır akciğerlerinden *Pasteurella multocida*'nın izolasyonu ve identifikasyonu (Uzmanlık Tezi). Ankara.
- Doughty, S. W., Ruffolo, C. G., Adler, B. (2000). The type 4 fimbrial subunit gene of *Pasteurella multocida*. *Vet. Microbiol.*,72: 79-90.
- Dryden M. S., Dalgliesh D (1996). *Pasteurella multocida* from a dog causing *Ludwig's Angina*. *The Lancet* 347 (8994):123. Doi:10.1016/S0140-6736(96)90250-0
- Dubrovsky S. A., Van Eenennaam A. L., Aly S. S., A. L., Karle, B. M., Rossitto, P. V., Overton, M. W., ... & Fadel, J. G. (2020). Preweaning cost of bovine respiratory disease (BRD) and cost-benefit of implementation of preventative measures in calves on California dairies: The BRD 10K study. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1583-1597.

Dungworth, D. L., Tyler, W. S., & Plopper, C. E. (1985). Morphological methods for gross and microscopic pathology. In *Toxicology of Inhaled Materials* (pp. 229-258). Springer, Berlin, Heidelberg.

Dziva F, Muhairwa A. P., Bisgaar M, Christensen H (2008). Diagnostic and typing options for investigating diseases associated with *Pasteurella multocida*. *Vet Microbiol*, 128, 1-22.

Erbaş, G. (2007). Aydın ve İzmir bölgesindeki sığırlardan *Pasteurella multocida*'nın izolasyonu, tiplendirilmesi ve antibiyotiklere duyarlılıkları (Doktora Tezi), Aydın.

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2020.
<http://www.eucast.org>

Evira (2018). Recommendations for the Use of Antimicrobials in the Treatment of the Most Significant Infectious and Contagious Diseases in Animals. University of Helsinki Faculty of veterinary medicine

Ewers C, Lübke-Becker A, Bethe A, Kiebling S, Filter M, Wieler Lh (2006). Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Vet. Microbiol.*, **114**: 304-317.

Fegan N, Vanderline P (1995). Isolation and characterisation of *Arcobacter butzleri* from meat, *Int J Food Microbiol*, 91, 31-44.

Gagea M. I., Bateman K. G., Van Dreumel T, Mcewen B. J., Carman S, Archambault M, Shanahan R. A., Caswell J. L. (2006). Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **18**: 18-28.

- Garcia-Alvarez, A., Fernandez-Garayzabal, J. F., Chaves, F., Pinto, C. and Cid, D. (2018). Ovine *Mannheimia haemolytica* isolates from lungs with and without pneumonic lesions belong to similar genotypes. *Veterinary microbiology*, 219, 80-86
- Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley J. R. (2004). *BERGEY'S MANUAL of SYSTEMATIC BACTERIOLOGY*, Vol., 2 The Proteobacteria, Part B. The Gammaproteobacteria.
- Gharibi, D., Haji Hajikolae, M. R., Ghorbanpoor, M., & Barzegar, S. K. (2017). Isolation, Molecular Characterization and Antibiotic Susceptibility Pattern of *Pasteurella multocida* Isolated from Cattle and Buffalo from Ahwaz, Iran. *Archives of Razi Institute*, 72(2), 93-100.
- Girgin, H., Nedret, A., Canbazoglu, M., Aksoy, E. (1989). İç Anadolu Bölgesinde buzağı pnömonisinde rol oynayan bakteriler ile bunların meydana getirdiği lezyonların patolojik özellikleri. I. Uluslararası Önemli Buzağı Hastalıkları Sempozyumu. Etlik, Ankara.
- Godey B, Morandi X, Bourdiniere J, Heurtin C (1999). Beware of dogs licking ears. *Lancet* 354 (9186):1267-1268. Doi:10.1016/S0140-6736(99)04197-5
- Gülaydın, Ö., Gürtürk, K., Ekin, İ. H. , & Öztürk, C., (2019). Sığırlardan elde edilen *Pasteurella multocida* izolatlarının çeşitli antimikrobiyel maddelere karşı duyarlılığı. Ispac Uluslararası Tarım Ve Kırsal Kalkınma Kongresi (Pp.5-6). Siirt, Turkey
- Güler L, Gündüz K, Sarıahin A. S. (2013). Capsular typing and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from different hosts. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19, 5, 843-849.

- Gündüz, K., Erganiş, O. (1998). Pnömonili sığır akciğerlerinden izole edilen *Pasteurella haemolytica* suslarının biyotiplendirilmesi ve serotiplendirilmesi. *Veterinarium*, **9**: 11-19.
- Gürel, H. (2009). Sığırlarda solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotikler. *Vet Hekim Der Derg* 80(3): 29-33, 2009
- Hailu, S. M., Kitila, D. B., Gemed, A. E., & Tarekegn, M. (2017). *Pasteurella* organism: Its isolation and identification from pneumonic lungs of goats in Ethiopia. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 4(2), 147-154.
- Haritani M, Nakazawa, M., Ohassi S, Yamada Y, Hazıroğlu Z, Narita M (1989). Immunoperoxidase evaluation of pneumonic lesions induced by *Pasteurella haemolytica* in calves, *Am J Vet Res*, 48: 1358-1362.
- Harper, M., Boyce, J. D., Adler, B. (2006). *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur. *FEMS. Microbiol. Lett.*, **265**:1-10.
- Harper, M., Cox, A., S. T. Michael, F., Parnas, H., Wilkie, I., Blackall, P. J., Adler, Ben., Boyce, J.D. (2007). Decoration of *Pasteurella multocida* lipopolysaccharide with phosphocholine is important for virulence. *J. Bacteriol.*, **189**: 7384-7391.
- Harper, M., Cox, A. D., Adler, B., Boyce, J. D. (2011). *Pasteurella multocida* lipopolysaccharide: the long and the short of it. *Vet Microbiol.*, **153**:109-15.
- Hatfaludi, T., Al-Hasani, K., Boyce, J. D., Adler, B. (2010). Outer membrane proteins of *Pasteurella multocida*. *Vet. Microbiol.*, **144**: 1-17.

Hazirođlu, R., Erdeđer, J., Glbahar, M. Y., Kul, O. (1997). Association of *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *Haemophilus somnus* with pneumonia in calves. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.*, **104**: 125-164.

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

Horiguchi, Y. (2012). Swine Atrophic Rhinitis Caused by *Pasteurella multocida* Toxin and Bordetella Dermonecrotic Toxin. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **361**:113-29.

Jesse, F. F. A., Amira, N. A., Isa, K. M., Maqbool, A., Ali, N. M., Chung, E.L.T. and Lila, M. A. M. (2019). Association between *Mannheimia haemolytica* infection with reproductive physiology and performance in small ruminants: A review. *Veterinary world*, *12*(7), 978.

Jesse F. F. A., Mubin H. N. A., Hambali I. U., Lila M. A. M., Chung E. L. T., Abba, Y., ... & Norsidin, M. J. (2019). Review on clinical management involving respiratory diseases in ruminants. *Adv. Anim. Vet. Sci*, *7*(4), 321-325.

Karahan, Ő., & Ekin, İ. H. , (2020). Pnömonili Sđđır Akciğer rneklerinde *Mycoplasma bovis*'in Real Time PCR ile Araştırılması . XIV. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı) (ss.148-149). Konya, Türkiye

Kehrenberg, C., Tham, N. T. T. and Schwarz, S. (2003). New plasmid-borne antibiotic resistance gene cluster in *Pasteurella multocida*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *47*(9), 2978-2980.

Kessel M (2015). Why microbial diagnostics need more than money. *Nat Biotechnol* *33* (9):898-900. Doi:10.1038/Nbt.3328

- Khamesipour, F., Momtaz, H., & Azhdary Mamoreh, M. (2014). Occurrence of virulence factors and antimicrobial resistance in *Pasteurella multocida* strains isolated from slaughter cattle in Iran. *Frontiers in microbiology*, 5, 536.
- Khan, M.R., Bhattacharjee, R., Amin, M.S.A. (2012). Performance of the salt bridge based microbial fuel cell. *International Journal Of Engineering And Technology*, 2, 115-123.
- Kılıç, A., & Muz, A. (2004). Pnömonili sığır akciğerlerinden bakteri izolasyonları ve izole *pasteurella*'ların polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(1), 217-223.
- Konak, S (2012). Afyonkarahisar İlinde Sığırlardan *Pasteurella multocida* İzolasyonu, Tiplendirilmesi, Antibiyotik Duyarlılığı Ve Bazı Virulens Genlerinin Pcr İle Belirlenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Afyon.
- Kubatzky, K. F. (2012). *Pasteurella multocida* and Immune Cells. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **361**:53-72.
- Kumar J, Dixit S. K., Kumar R (2015). Rapid detection of *Mannheimia haemolytica* in lung tissues of sheep and from bacterial culture. *Vet World* 8:1073–1077
- Lax, J. A., Chanter, N. (1990). *Pasteurella multocida* toxin, a potent mitogen, stimulates protein kinase c-dependent and- independent protein phin sosphorylation in Swiss
- Lee Y. L., Cesario T, Owens J, Shanbrom E, Thrupp L. D. (2000). Antibacterial activity of citrate and acetate, *Nutrition*, 18(7-8), 665-666

- Lee, J., Kang, H. E., Woo, H. J. (2012). Protective immunity conferred by the C-terminal fragment of recombinant *Pasteurella multocida* toxin. *Clin Vaccine Immunol.* **19**:1526-31.
- Lizarazo, Y. V., Ferri, E. R., & Martín, C. G. (2008). Evaluation of different API systems for identification of porcine *Pasteurella multocida* isolates. *Research in veterinary science*, 85(3), 453-456.
- Lopez A (2007). Respiratory system, in 'Pathological Basis Of Veterinary Disease', Editors, Mcgarvin Md, Zachary, 522–523, Mosby Elsevier, St. Louis.
- Lu, Y. S., Afendis, S. J., Pakes, S. P. (1988). Identification of immunogenic outer membrane proteins of *Pasteurella multocida* 3:A in rabbits. *Infect. Immun.*, **56**: 1532-1537.
- Lubbers B. V., Turnidge J (2015). Antimicrobial susceptibility testing for bovine respiratory disease: getting more from diagnostic results. *The Veterinary Journal*, 203(2), 149-154.
- Luo, Y., Zeng, Q., Glisson, J. R., Jackwood, M. W., Cheng, I. H., Wang, C. (1999). Sequence analysis of *Pasteurella multocida* major outer membrane protein (OmpH) and application of synthetic peptides in vaccination of chickens against homologous strain challenge. *Vaccine.*, **17**: 821-831.
- Madsen, E. B., Bisgaard, M., Mutters, R., Pedersen, K. B. (1985). Characterization of *Pasteurella* species isolated from the lungs of calves with pneumonia. *Can. J. Comp. Med.*, **49**: 63-67.
- Maity B, Deb P (1991). Seasonal variation in incidence of pneumonia in cattle, *Indian J Of Animal Sci*, 61(3): 261-262.

- Marandi, M. V., & Mittal, K. R. (1997). Role of outer membrane protein H (OmpH)-and OmpA-specific monoclonal antibodies from hybridoma tumors in protection of mice against *Pasteurella multocida*. *Infection and immunity*, 65(11), 4502-4508.
- Markey, B. K., Carter, M. E., Donnelly, W. J., Leonard, F. C. (2004). *Veterinary microbiology and microbial diseases*. Blackwell, UK.
- Mates C, Spinu M, Sandru C. D., Pall E, Niculae C, Niculae M (2016). Antimicrobial protocols in bovine respiratory disease complex – a review. *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara*, 49(3):100-106.
- Mathy N. L., Mathy J. P., Lee R. P., Walker J, Lofthouse S, Meeusen E. N. (2002). Pathological and immunological changes after challenge infection with *Pasteurella multocida* in naive and immunized calves. *Veterinary immunology and immunopathology*, 85(3-4), 179-188.
- Miller D. S., Weiser, G. C., Ward, A. C. S., Drew, M. L., Chapman, P. L. (2011). Domestic sheep (*ovis aries*) *Pasteurellaceae* isolates from diagnostic submissions to the caine veterinary teaching center (1990-2004). *Vet.Microbiol.*, 150(3-4): 284-288.
- Mohamed M. A., Mohamed M. W., Ahmed A. I., Ibrahim A. A., Ahmed M. S. (2012). *Pasteurella multocida* in backyard chickens in Upper Egypt: incidence with polymerase chain reaction analysis for capsule type, virulence in chicken embryos and antimicrobial resistance. *Vet. Ital.*, 48:77-86.
- Mosier Da (1997). Bacterial pneumonia, *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, 13, 483–493.
- Mutter R., Mannheim W., Bisgaard M. (1989). Taxonomy of the group, 3–34, Adlam C, Rutter Jm (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*, Academic Press, Inc. New York.

- Mutters, R., Pedersen, K. B. (1985). Characterization of *Pasteurella* species isolated from the lungs of calves with pneumonia. *Can. J. Comp. Med.*, 49: 63-67.
- Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **67**: 593-656.
- Nikunen, S., Hartel, H., Orro, T., Neuvonen, E., Tanskanen, R., Kivela, S. L., Sankari, S., Aho, P., Pyörala, S., Saloniemi, H., Soveri, T. (2007). Association of bovine respiratory disease with clinical status and acute phase proteins in calves. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, **30**:143-151.
- Office International Des Epizooties (Oie). (2008). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Terrestrial Manual), Paris. 739- 1091.
- Okay, S. (2011). Development of recombinant vaccines composed of plpe and omph from *Pasteurella multocida* A:3. The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University Doctorate Thesis, Ankara
- Othman, S., Parton, R., Coote, J. (2012). Interaction between mammalian cells and *Pasteurella multocida* B:2. Adherence, invasion and intracellular survival. *Microb. Pathog.*, **52**:353-8.
- Önat, K., Kahya, S., Çarlı, K. T. (2010). Frequency and antibiotic susceptibility of *Pasteurella multocida* and *Mannheimia haemolytica* isolates from nasal cavities of cattle. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **34**: 91-94.
- Politis, A. P., Vasileiou N. G. C., Ioannidi K. S., Mavrogianni V. S. (2019). Treatment of bacterial respiratory infections in lambs. *Small Rumin Res*, 176:70-75.

- Prado, M. E., Prado, T. M., Payton, M., Confer, A. W. (2006). Maternally and naturally acquired antibodies to *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in beef calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **111**: 301-307.
- Quinn P. J., Carter M. E., Markey B. K., Carter G. R. (1994). *Clinical Veterinary Microbiology*, Mosby-Year Book, Europe Limited, 254–258, Dublin.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J., Leonard, F.C. (2004). *Veterinary Microbiology And Microbial Diseases*. Blackwell, Uk.
- R. A. Mohamed & E. B. Abdelsalam, (2008). *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 11, No: 3, 139–160.
- Rerat, M., Albin, S., Jaquier, V., Hussy D. (2012). Bovine respiratory disease: efficacy of different prophylactic treatments in veal calves and antimicrobial resistance of isolated *Pasteurellaceae*. *Prev. Vet. Med.*, **103**:265-73.
- Rimler R. B., Rhoades K. R. (1989). *Pasteurella multocida*, 37–74. In: Adlam C, Rutter Jm (Eds.) *Pasteurella and Pasteurellosis*, Academic Press, Inc. New York.
- Ruffolo, C.G., Adler, B. (1996). Cloning, sequencing, expression, and protective capacity of the *oma87* gene encoding the *Pasteurella multocida* 87-kilodalton outer membrane antigen. *Infect. Immun.*, **64**: 3161-3167.
- Ryan J. M., Feder H. M. (2019). Dog licks baby. Baby gets *Pasteurella multocida* meningitis. *Lancet* 393 (10186):E41. Doi:10.1016/S0140-6736(19)30953-5
- Sahay S, Natesan K, Prajapati A, Kalleshmurthy T, Shome B. R., Rahman H, Shome R (2020). Prevalence and antibiotic susceptibility of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from ovine respiratory infection: a study from Karnataka, Southern India, *Veterinary World*, 13(9): 1947-1954.

- Samuel, M.D., Shadduck, D.J., Goldberg, D.R., Johnson, W.P. (2003). Comparison of methods to detect *Pasteurella multocida* in carrier waterfowl. *J. Wildl. Dis.*, **39**: 125-135.
- Sebbar, G., Zro, K., Kichou, F., Maltouf, A. F., & Belkadi, B. (2018). Isolation and identification of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* species from ruminants in six different regions in Morocco. *Journal Of Agricultural Science And Technology A*, *8*, 387-394.
- Sellyei, B., Ronai Z., Janosi S, Makrai L (2015). Comparative analysis of *Pasteurella multocida* strains isolated from bovine respiratory infections. *Acta Microbiol Imm H*, *62* (4), 453-462.
- Snowder, G. D., Van Vleck, L. D., Cundiff L. V., Bennett, G. L. (2006). Bovine respiratory disease in feedlot cattle: Environmental, genetic, and economic factors. *J. Anim. Sci.*, **84**: 1999-2008.
- Soike, D., Schulze, C., Kutzer, P., Ewert, B., Van Der Grinten, E., Schliephake, A., Ewers, C., Bethe, A., Rau, J. (2012). Acute pasteurellosis in fallow deer, cattle and pigs in a region of Eastern Germany. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, **125**:122-8.
- Stanek, J. F., Dubey J. P., Oglesbee M. J., Reed S. M., Lindsay D. S., Capitini L. A., Njoku C. J., Vittitow K. L., Saville W. J. (2002). Life cycle of sarcocystis neurona in its natural intermediate host, the raccoon, procyon lotor. *Journal of Parasitology*, *88*(6): 1151-1158
- Stanford, K., Zaheer, R., Klima, C., Mcallister T, Peters D, Niu Yd, Ralston B (2020). Antimicrobial Resistance in Members of the Bacterial Bovine Respiratory Disease Complex Isolated from Lung Tissue of Cattle Mortalities Managed with or without the Use of Antimicrobials. *Microorganisms*, *8*(2):E288.

- Tan, H. Y., Nagoor, N. H., Sekaran, S. D. (2010). Cloning, expression and protective capacity of 37 kDa outer membrane protein gene (ompH) of *Pasteurella multocida* serotype B:2. *Trop. Biomed.*, **27**:430-41.
- Taylor, J.D., Holland, B.P., Step, D.L., Payton, M.E. And Confer, A.W. (2015). Nasal isolation of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* as predictors of respiratory disease in shipped calves. *Research in veterinary science*, *99*, 41-45.
- Tegtmeier C, Uttenthal A, Friis Nf, Jensen Ne, Jensen He (1999). Pathological and microbiological studies on pneumonic lungs from Danish calves. *Zentralbl. Veterinarmed. B.*, **46**: 693-700.
- Townsend, K. M., Frost, A. J., Lee, C. W., Papadimitriou, J. M., Dawkins, H. J. (1998). Development of PCR assays for species- and type-specific identification of *Pasteurella multocida* isolates. *J. Clin. Microbiol.*, **36**: 1096-100.
- Ülker, H., Kucuk, D., Cantekin, Z., & Solmaz, H. (2012). Hatay Yöresinde Kesimhanede Kesilen Sığır Akciğerlerinden *Pasteurella multocida* ve *Mannheimia haemolytica* İzolasyonu ve Antibiyotiklere Duyarlılığı. *Avkae Derg*, *2*(2),10-14.
- Welsh, R.D., Dye, L.B., Payton, M.E., Confer, A.W. (2004). Isolation and antimicrobial susceptibilities of bacterial pathogens from bovine pneumonia. *J. Vet. Diagn. Invest.* **16**: 426- 431.
- Wijewardana, T.G., Wilson, C.F., Gilmour, N.J., Poxton, I.R. (1990). Production of mouse monoclonal antibodies to *Pasteurella multocida* type A and the immunological properties of a protective anti-lipopolysaccharide antibody. *J. Med. Microbiol.*, **33**: 217-222.

- Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G (2006). *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. Lippincott Williams & Wilkins, Sixth Edition, Philadelphia, Usa.
- Wood M. E., Fox K. A., Jennings-Gaines J, Killion H. J., Amundson S, Miller M. W., Edwards W. H. (2017). How respiratory pathogens contribute to lamb mortality in a poorly performing bighorn sheep (*Ovis canadensis*) herd. *Journal of wildlife diseases*, 53(1), 126-130.
- Yates, W. D. G. (1982). A review of infectious ovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle. *Can. J. Comp. Med.*, **46**: 225-263.
- Yoshimura, H., Ishimaru, M., Endoh, Y. S., Kojima, A. (2001). Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from cattle and pigs. *J. Vet. Med. B.*, **48**: 555-560.
- Zangenah, S., Güleriyüz, G., Borang, S., Ullberg, M., Bergman, P., & Özenci, V. (2013). Identification of clinical *Pasteurella* isolates by MALDI-TOF—a comparison with VITEK 2 and conventional microbiological methods. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 77(2), 96-98.

ÖZGEÇMİŞ

Seydi Mehmet ARSLAN 1982 yılında Afyonkarahisar’da doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Afyonkarahisar ve Eskişehir illerinde tamamladı. 2006 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldu. 2007-2008 yılları arasında askerlik görevini Nusaybin 2. Hudut Taburunda veteriner hekim teğmen olarak tamamladı. 2008-2009 yılları arasında Afyonkarahisar Esnaf ve Sanatkarlar Odaları Birliği kesimhanesinde sorumlu müdür olarak çalıştı. 2009 yılında atandığı Tarım ve Orman Bakanlığı Kütahya İl Müdürlüğünde halen çalışmaktadır.