

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TAVŞANLARDA DENEYSEL PASTÖRELLOZİSTE PATOLOJİK BULGULAR

**Veteriner Hekim
MURAT YARIM**

**PATOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

T 88983

**DANIŞMAN
Prof.Dr. Ümit H. MİLLİ**

**Bu tez, Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 96-30-00-10
no'lu proje ile desteklenmiştir.**

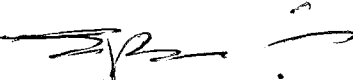
1999 – ANKARA

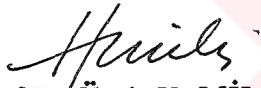
**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Patoloji Doktora Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez savunma tarihi: 10 / 12 / 1999


Prof.Dr.Şenay BERKİN
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi


Prof.Dr.Ümit H. MİLLİ
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi


Prof.Dr.İ. Ayhan ÖZKUL
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi


Prof.Dr. Hüdaverdi ERER
Selçuk Üniversitesi
Veteriner Fakültesi


Prof.Dr.Günay ALÇIĞIR
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Önsöz

Tavşanlarda yüksek morbidite ve mortaliteyle seyreden pastörellozis önemli ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır. Bu çalışmada *Pasteurella multocida* 3:A serotipi tavşanlara üç farklı yolla inoküle edilerek pastörellozisin patolojik bulguları makroskobik, ışık mikroskobik ve elektron mikroskobik olarak incelenmiş ve patogenezi ortaya konmaya çalışılmıştır.

Bu çalışmayı doktora tezi olarak veren ve çalışmanın yürütülmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Prof.Dr. Ümit H. MİLLİ'ye ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üye ve yardımcıları ile teknik personeline, elektron mikroskobik kesitlerin alınması ve incelenmesi sırasındaki yardımlarından dolayı Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üye ve yardımcıları ile teknik personeline, bakteriyolojik incelemeleri yapan Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üye ve yardımcılarına, mali destek sağlayan Ankara Üniversitesi Araştırma Fon Müdürlüğü'ne, *Pasteurella multocida* 3:A serotipini gönderen Dr.Richard RİMLER'e, çalışmam sırasındaki desteklerinden dolayı eşime, aileme ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	ii
Önsöz.....	iii
İçindekiler.....	iv
Şekiller.....	vi
Tablolar.....	x
Simgeler ve Kısaltmalar.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Hastalığın Tarihçesi.....	1
1.2. Hastalığın Etiyolojisi.....	4
1.3. Hastalığın Ensidansı.....	6
1.4. Hastalığın Epizootiyolojisi.....	7
1.5. Hastalığın Klinik Formları.....	10
1.5.1. Rinitis.....	10
1.5.2. Pnömoni.....	11
1.5.3. Otitis Media ve Interna.....	12
1.5.4. Konjunktivitis.....	12
1.5.5. Apseler.....	13
1.5.6. Genital Sistem Enfeksiyonları.....	13
1.5.7. Septisemi.....	14
1.5.8. Çeşitli Enfeksiyonlar.....	14
1.6. Hastalığın Patogenezi.....	14
1.6.1. Enfeksiyonun Yayılması.....	17
1.6.2. Konakçı-Etken Etkileşimi.....	18
1.6.2.1. Konakçı Yanıtı.....	18
1.6.2.2. Bakteriyel Virülens.....	21
1.7. Hastalığın Patolojisi.....	23
1.7.1. Makroskopik Bulgular.....	23
1.7.2. Mikroskopik Bulgular.....	26
1.7.3. Elektron Mikroskopik Bulgular.....	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
2.1. Deney Hayvanı.....	32
2.2. Suşun Temin Edilmesi.....	32
2.3. Suşun Karakterizasyonu.....	32
2.4. İnokulumun Hazırlanması.....	33
2.5. Deneysel Enfeksiyonun Oluşturulması.....	34
2.5.1. İntranazal İnokülasyon.....	34
2.5.2. İntratraheal İnokülasyon.....	34
2.5.3. İntravenöz İnokülasyon.....	35
2.6. Deneme Planı.....	35
2.7. Mikrobiyolojik İnceleme.....	36
2.8. Histopatolojik İnceleme İçin Doku Kesitlerinin Hazırlanması.....	36
2.9. Elektron Mikroskopik İnceleme İçin Doku Kesitlerinin Hazırlanması.....	36
3. BULGULAR.....	38
3.1. Klinik Bulgular.....	38
3.2. Mikrobiyolojik Bulgular.....	39
3.3. Makroskopik Bulgular.....	40

3.3.1. İntranazal İnokülasyon Deneme Grubu.....	40
3.3.2. İntratraheal İnokülasyon Deneme Grubu.....	42
3.3.3. İntravenöz İnokülasyon Deneme Grubu.....	45
3.4. Mikroskopik Bulgular.....	53
3.4.1. İntranazal İnokülasyon Deneme Grubu.....	53
3.4.2. İntratraheal İnokülasyon Deneme Grubu.....	55
3.4.3. İntravenöz İnokülasyon Deneme Grubu.....	57
3.5. Elektron Mikroskopik Bulgular.....	71
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	78
ÖZET.....	85
SUMMARY.....	86
KAYNAKLAR.....	87



ŞEKİLLER

Şekil 1. İntranazal inokülasyon sonrası 4. günde ölen tavşan (No. 1). Akciğerin kranial loblarında konsolidasyon alanları (oklar).

Şekil 2. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 2). Akciğerin tüm loblarında şiddetli ödem ve konjesyon ile kanama ve konsolidasyon alanları.

Şekil 3. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 3). Plörada ve akciğer lobları arasında açık sarı renkte fibrin kitleleri.

Şekil 4. İntranazal inokülasyon sonrası 14. günde ölen tavşan (No. 11). Kalp kesesinde orta derecede fibrinopurulent perikarditis ve diafragmanın plöral yüzünde fibrinopurulent plöritis (ok).

Şekil 5. İntranazal inokülasyon sonrası 14. günde ölen tavşan (No. 11). Akciğerin sağ loblarında kalın, sol loblarında ise ince bir tabaka şeklinde görülen fibrinopurulent plöritis ve kalp kesesinde orta derecede fibrinopurulent perikarditis (ok).

Şekil 6. İntranazal inokülasyon sonrası 14. günde ölen tavşan (No. 11). Göğüs boşluğu fibrinopurulent bir içerikle dolu. Akciğerde hafif konjesyon ve amfizem alanları. Fibrinopurulent plöritis ve perikarditis (ok).

Şekil 7. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. günde ölen tavşan (No. 7). Göğüs boşluğunda serofibrinli içerik. Akciğerin kranial lobları arasında açık sarı renkte kalın fibrinopurulent kitleler (ok) ve diafragmanın plöral yüzünü kaplayan ince fibrinopurulent tabaka.

Şekil 8. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. günde ölen tavşan (No. 7). Akciğerin kranial lobları arasında açık sarı renkte az miktarda fibrinopurulent kitle (ok) ve kranial loblarda konsolidasyon alanları.

Şekil 9. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. günde ölen tavşan (No. 8). Göğüs boşluğunun sol bölümünde şiddetli pyotoraks.

Şekil 10. İntratraheal inokülasyon sonrası 12. günde ölen tavşan (No. 10). Göğüs boşluğunun sol bölümünde şiddetli pyotoraks.

Şekil 11. İntratraheal inokülasyon sonrası 12. günde ölen tavşan (No. 10) Akciğerin sol loblarını kalın bir tabaka halinde örten açık sarı renkte fibrinopurulent kitle.

Şekil 12. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. günde ölen tavşan (No. 8). Açık sarı renkli fibrinopurulent kitle akciğerin sol tarafını tümüyle, kalbin ise büyük bir kısmını kaplamış durumda.

Şekil 13. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 2). Akciğerin kranial loblarında konsolidasyon alanları.

Şekil 14. İntranazal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 4). İnteralveoler kapillalar genişlemiş ve eritrositlerle dolu. Alveol lumenlerinde yoğun nötrofil granülosit ve makrofaj birikimi. HE, x320.

Şekil 15. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 2). Nekrotik bronşiolitis. Bronşiol lumeni dökülmüş epitel hücreleri ve nötrofil granülositlerle dolu durumda. HE, x320.

Şekil 16. İntranazal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 4). Akciğerde fibrinopurulent ve nekrotik bronkopnömoni. HE, x320.

Şekil 17. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 3). Akciğerde interalveoler kapillar lumenlerindeki nötrofil granülositlerin sitoplazmalarında *Pasteurella multocida*'lar (oklar). MayGrunwald-Giemsa, x1400.

Şekil 18. İntranazal inokülasyon sonrası 14. günde ölen tavşan (No. 11). Fibrinopurulent plöritis. HE, x160.

Şekil 19. İntranazal inokülasyon sonrası 14. günde ölen tavşan (No. 11). Fibrinopurulent perikarditis. Epikard ve myokardda yoğun nötrofil granülosit infiltrasyonu ve fibrin kitleleri. HE, x160.

Şekil 20. İntratraheal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 3). Fibrinopurulent bronkopnömoni. HE, x160.

Şekil 21. İntratraheal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 3). Alveol lumenleri yoğun şekilde nötrofil granülositler ve makrofajlarla dolu. HE, x320.

Şekil 22. İntratraheal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 4). Nekrotik bronşiolitis ile çevre alveol lumenlerinde nötrofil granülosit ve makrofajlar. HE, x160.

Şekil 23. İntratraheal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 4). Şiddetli nekrotik bronşiolitis ile alveol lumenlerinde nötrofil granülosit ve makrofajlar. HE, x320.

Şekil 24. İntratraheal inokülasyon sonrası 10. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 9). Akciğerde geniş nekroz alanı. HE, x60.

Şekil 25. İntratraheal inokülasyon sonrası 8. günde ölen tavşan (No. 6) Çok çekirdekli dev hücre oluşumları (oklar). HE, x600.

Şekil 26. İntratraheal inokülasyon sonrası 12. günde ölen tavşan (No. 10). Akciğerde alveol makrofajlarının sitoplazmalarında kokobasil şeklinde görülen Gram-negatif *Pasteurella multocida*'lar (oklar). Brown-Brenn Gram, x1400.

Şekil 27. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. günde ölen tavşan (No. 8). Fibrinopurulent plöritis. HE, x320.

Şekil 28. İntratraheal inokülasyon sonrası 12. günde ölen tavşan (No. 10). Akciğerin plöral yüzeyi ile diafragma arası fibrinopurulent eksudatla dolu durumda. HE, x160.

Şekil 29. İntratraheal inokülasyon sonrası 4. günde ölen tavşan (No. 1). Fibrinopurulent perikarditis. HE, x160.

Şekil 30. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 2). Traheanın lamina propria'sında hiperemik damarlar ve ödem ile birlikte nötrofil granülositler ve mononükleer hücrelerden oluşan yangısal hücre infiltrasyonu. HE, x320.

Şekil 31. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 4). Akciğerde şiddetli hiperemi, alveol lumenlerinde nötrofil granülositlerin yer aldığı fokal yangısal alanlar ve bir bronşiol lumeninde yer alan hücresel eksudat. HE, x160.

Şekil 32. İntravenöz inokülasyon sonrası 10. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 8). Akciğerde interalveoler kapillarların lumenlerinde bulunan bol miktarda nötrofil granülosit (oklar). HE, x600.

Şekil 33. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 2). Akciğerde interalveoler kapillar lumenlerindeki nötrofil granülositlerin sitoplazmalarında *Pasteurella multocida*'lar (oklar). MayGrunwald-Giemsa, x1400.

Şekil 34. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 3). Karaciğerde Kupffer hücrelerinin (ok başları) ve bir hepatositin (ok) sitoplazmalarında kokobasil şeklindeki *Pasteurella multocida*'lar. MayGrunwald-Giemsa, x1400.

Şekil 35. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 3). Dalakta retiküler hücrelerin sitoplazmalarında *Pasteurella multocida*'lar (oklar). MayGrunwald-Giemsa, x1400.

Şekil 36. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 3). Böbrekte kapillar lumenlerinde yer alan nötrofil granülositlerin sitoplazmalarında *Pasteurella multocida*'lar (oklar). MayGrunwald-Giemsa, x1400.

Şekil 37. İntranazal inokülasyon sonrası 10. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 8). Bronşiol lumeninde makrofajlar (M) ve serbest eritrositler (E). (BL) Bronşiol lumeni, (BE) bronşiol epiteli, (S) silium. x3600.

Şekil 38. İntratraheal inokülasyon sonrası 10. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 9). Alveol lumeninde çok sayıda makrofaj (M) ve bir adet nötrofil granülosit (NG). (AL) Alveol lumeni, (P) tip II pnömonosit. x3700.

Şekil 39. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 2). Alveol lumeninde alveol makrofajı (M) ve nötrofil granülositler (NG). (AL) Alveol lumeni, (P) tip II pnömonosit. x3700.

Şekil 40. İntranazal inokülasyon sonrası 10. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 7). Alveol lumeninde serbest halde görülen *Pasteurella multocida*'lar (oklar). (AL) Alveol lumeni. x6400.

Şekil 41. İntranazal inokülasyon sonrası 4. günde ölen tavşan (No. 1). Bir nötrofil granülositin sitoplazmasında *Pasteurella multocida*'lar (oklar). (n) Nukleus. x7600.

Şekil 42. İntranazal inokülasyon sonrası 4. günde ölen tavşan (No. 1). Bir nötrofil granülositin sitoplazmasında görülen *Pasteurella multocida*'lar (oklar). Bakterilerin sitoplazmalarında elektron-lusent bölgeler. (n) Nukleus. x7600.

Şekil 43. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 2). İntravasküler fibrin oluşumları (oklar). (E) Eritrosit, (NG) nötrofil granülosit, (EH) endotel hücresi. x3600.

Şekil 44. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 3). Akciğer parenkiminde yoğun fibrin kitleleri (oklar). x3600.

Şekil 45. İntratraheal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 2). İnteralveoler kapillar lumeninde çok sayıda nötrofil granülosit (oklar). (EH) Endotel hücresi, (P) tip II pnömonosit. x2800.

Şekil 46. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 3). İnteralveoler kapillar lumenindeki nötrofil granülosit (NG) sitoplazmasındaki fagozomlar içinde *Pasteurella multocida*'lar (oklar). (AL) Alveol lumeni, (E) eritrosit. x7600.

TABLÖLAR

Tablo 1. *Pasteurella multocida* 3:A serotipinin kültürel, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

Tablo 2. Deneme planı

Tablo 3. Nekropsileri sonrasında tavşanların iç organlarından *Pasteurella multocida* izolasyon sonuçları.

Tablo 4. İntranazal *Pasteurella multocida* inokülasyonu yapılan tavşanlarda makroskopik bulgular

Tablo 5. İntratraheal *Pasteurella multocida* inokülasyonu yapılan tavşanlarda makroskopik bulgular

Tablo 6. İntravenöz *Pasteurella multocida* inokülasyonu yapılan tavşanlarda makroskopik bulgular

SİMGELER VE KISALTMALAR

CFU	Colony Forming Units
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
HE	Hematoxylin-Eosin
İN	İntranazal
İT	İntratraheal
İV	İntravenöz
M	Molar



1. GİRİŞ

Hayvansal protein kaynağı olan tavşan, özellikle gelişmiş ülkelerde insan gıdası olarak artan bir öneme sahiptir (FAO, 1982). Tavşan, etinin yüksek protein içermesi, türlerinin doğurganlığı, ekstansif ve entansif olarak rahat yetiştirilebilmesi nedeniyle önemlidir (Kpodekon, 1983).

Tavşanlarda pastörellozis terimi *Pasteurella multocida* tarafından oluşturulan hastalığı tanımlar. *Pasteurella multocida* tavşanların burun boşluğunda bulunur ve rinitis ya da asemptomatik kronik enfeksiyonlar meydana getirir. Bazen bu enfeksiyonlar burun boşluğundan vücudun diğer kısımlarına yayılır. Tavşanlar *Pasteurella multocida* enfeksiyonlarına oldukça duyarlıdırlar ve hastalığa bağlı olarak birçok klinik form gelişir. Bu formlar arasında rinitis, pnömoni, otitis media ve interna, konjunktivitis, apseler, genital sistem enfeksiyonları ve sepsis yer alır. Bu hastalığın birçok klinik formu bulunduğundan pastörellozis terimi hastalık grubunun tümünü tanımlar (Flatt, 1974).

Pastörellozis yalnızca çiftlik ve araştırma tavşanlarının hastalanmasına neden olarak entansif yetiştirmede sürekli ekonomik kayıplar oluşturmakla kalmayıp enzootik seyretmesi ve zoonotik olmasından dolayı sağlık için ciddi tehdit oluşturan bir hastalıktır (Redondo ve ark., 1990).

1.1. Hastalığın Tarihçesi

Tavşan pastörellozisi ilk kez Davis (1913,1917) tarafından hemofilus benzeri bir basilin neden olduğu apse, sepsis ve solunum sistemi bozukluklarının şekillendiği hastalık olarak tanımlanmıştır. Webster (1924a-e, 1925, 1926, 1927) ile Smith ve

Webster (1925) tarafından yapılan yayınlar tavşan pastörellozisi çalışmalarına temel oluşturmuştur. Bu çalışmalar hastalığın etiyolojik etkeni ile klinik ve patolojik formları üzerinde yapılan klasik çalışmalardır ve pastörellozisin patogenezisinde önemli faktörleri belirlemiştir.

Pastörellozisin çok yaygın bir formu olan rinitisin nedeni Webster'in (1924c,d,e) çalışmalarının yayınlanmasına kadar bilinmiyordu. Webster (1924c,d) tavşanların burun boşluğu florası üzerinde çalışmış ve hastalığa neden olan mikroorganizmanın *Pasteurella multocida* olduğunu ileri sürmüştür. Rinitisli tavşanların yaklaşık %30-40'ından *Bordetella bronchiseptica* izole edilirken, *Pasteurella multocida* hemen hemen tüm rinitisli tavşanlardan izole edilmiştir. Webster (1924e) tavşanlara *Pasteurella multocida*'yı intranazal inoküle ederek hastalığı tekrar oluşturmuştur.

Webster (1925) tavşan pnömonisinin *Pasteurella multocida* ile ilişkili olduğunu açık bir şekilde göstermiştir. Bu araştırmacı *Pasteurella multocida*'yı doğal olarak oluşan olgulardan izole ve identifiye etmiş ve hastalığı deneysel olarak şekillendirmek için kullanmıştır. Alexander ve ark. (1952) hafif ya da şiddetli pnömoni bulguları gösteren 12 tavşanı öldürmüş ve bu tavşanların akciğer ve trahealarından ekimler yapmıştır. Ekimlerde kronik hastalık bulguları gösteren 8 tavşandan 5'inde *Pasteurella multocida* ve 3'ünde *Bordetella bronchiseptica* ile akut hastalık bulguları gösteren 4 tavşanın tümünde *Pasteurella multocida* izole etmişlerdir. Hagen (1958) 857 tavşanın olduğu bir kolonide 35 tavşanda kaşeksi, solunum güçlüğü, burun akıntısı ve göz kapaklarında eksudata bağlı yapışma görüldüğünü ve hayvanların 2-7 gün içinde öldüklerini bildirmiştir. Araştırmacı bu tavşanların nekropsilerinde akciğerlerin kranial loblarında iyi sınırlanmış bronkopnömoni alanlarının olduğunu ve yapılan ekimlerin çoğunda *Pasteurella multocida* ürediğini ifade etmiştir. Flatt ve Dungworth (1971b) da *Pasteurella multocida*'nın pnömoniden sorumlu olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, pnömonik akciğerlerden *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica* ve *Staphylococcus aureus* izole edilmesine rağmen, son iki mikroorganizmanın normal akciğerlerde de bulunduğu ve bu iki mikroorganizmanın pnömonide primer öneme

sahip olmadığı araştırmacılar tarafından kaydedilmiştir. Oysa, deneysel olarak *Bordetella bronchiseptica*'nın pnömoni oluşturabileceği ve bazen de *Pasteurella multocida* ile kopatojen gibi hareket edebileceği ileri sürülmüştür (Glavits ve Magyar, 1990).

Webster (1925) *Pasteurella multocida* ile deneysel olarak intranazal, intratraheal ve intravenöz inokülasyonlar ile hastalığı tekrar oluşturmuştur. Araştırmacı *Pasteurella multocida*'nın rinitis ve pnömoni yanında otitis media, apse oluşumları ve septiseminin asıl nedeni olduğunu da ileri sürmüştür. Smith ve Webster (1925) 100 tavşanın nekropsisi sonrasında otitis klinik bulguları gösteren birkaç tavşanda otitis media olgusu ile karşılaştıklarını belirtmişlerdir. Çoğu tavşanda aynı anda rinitis ve otitis medianın görülmesiyle otitis medianın nedenleri arasına *Pasteurella multocida* da dahil edilmiştir. Bu durum *Pasteurella multocida* ile intranazal inokülasyonda doğrulanmış, fakat *Bordetella bronchiseptica* inokülasyonunda otitis medianın oluşmadığı görülmüştür. Webster (1924a) apse oluşumlarını ve septisemiye de pastörellozisin bulguları olarak tanımlamış, septiseminin özellikle pastörellozisin diğer formları olan rinitis ve pnömoni gibi ölüm nedeni olabileceğini ileri sürmüştür. Araştırmacının otitis medianın klinik görünümü, patolojisi ve etiyolojisi ile ilgili rapor ettiği bilgiler bugün de halen geçerliliğini korumaktadır.

Smith ve Webster (1925) pastörellozisin patogeneziinde rol oynayan en önemli yolu şu şekilde belirtmiştir: hastalık genellikle taşıyıcıların burun boşluğunda başlar ve daha sonra direkt olarak solunum sisteminin diğer kısımlarına ya da kan dolaşımıyla tüm vücuda yayılır. Araştırmacılar tavşanda enfeksiyonun yayılımının ve klinik bulguların gelişiminin konakçı ile mikroorganizma arasındaki etkileşime bağlı olduğunu da bildirmişler ve konakçı direncinde genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

1.2. Hastalığın Etiyolojisi

Pasteurella cinsinde 4 tip bulunmaktadır. Bunlar *Pasteurella multocida*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella pneumotropica* ve *Pasteurella urease*'dir. Pastörellozis terimi *Pasteurella multocida* ya da *Pasteurella haemolytica*'nın şekillendirdiği enfeksiyonlar için kullanılan ortak bir terimdir (Jubb ve ark., 1993). *Pasteurella* cinsindeki bakteriler Gram negatif, sporsuz, hareketsiz, kokobasil ya da kısa çomak şeklinde olup 0.2-0.3 µm çapında ve 1-2 µm uzunluğundadır (Arda ve ark., 1997; Kpodekon ve ark., 1999).

Tavşanlarda pastörellozisin nedeni olan *Pasteurella multocida* hayvanlarda en çok görülen tiptir (Kpodekon ve ark., 1999). *Pasteurella multocida* önceleri *Bacterium lepiseptica*, *Bacillus lepiseptica*, *Pasteurella lepiseptica* ya da *Pasteurella septica* olarak isimlendirilmiştir (Flat, 1974).

Pasteurella multocida kanlı agarda ya da dekstrozu katı agarda iyi ürerken, McConkey's agarda iyi üreme göstermez. *Pasteurella multocida* izolatları serolojik ve biyolojik karakteristikleri ile tiplendirilir. Aerobik inkübasyon sonrası (37°C'de 24 saat) yuvarlak, dışbükey ve düz koloniler oluşur. Çoğu izolatlar geniş kapsüllüdür ve visköz ya da mukoid görünümlü koloniler şekillendirir. İzolatların bir kısmı ise kapsülsüz ya da ince kapsüllüdür. Kapsüllü izolatlar 2-2.5 mm çapında koloniler oluştururken, kapsülsüz izolatlar bunların yarısı genişliğinde koloniler oluşturur. İzolatlar farklılaşabilir, yani yapay vasatta bir tipten diğerine değişebilir. Klinik bulgu gösteren olgulardan elde edilen izolatlar mukoid tiptedir. Mukoid tipin çok patojenik olduğu düşünülmektedir (Brogden, 1980).

Heddleston (1976) *Pasteurella multocida*'nın biyokimyasal özelliklerini tanımlamıştır. Hemen hemen tüm izolatlarda katalaz, oksidaz, indol, hidrojen sülfid ve heksoz fermentasyonunun pozitif, üreaz üretiminin negatif olduğu görülmüştür.

Pasteurella multocida sığır, koyun, yaban sığı, geyik, domuz, kedi, tavşan ve kanatlılar ile diğer hayvanlardaki patolojik durumlardan izole edilmiştir (Akay ve ark., 1987; Aydın, 1980, 1988; Diker ve ark., 1994; Hazıroğlu ve ark., 1994, 1996; Milli ve ark., 1987). *Pasteurella multocida* önceleri bulunduğu konakçıya göre farklı suşlarla isimlendirilmiştir. Fakat, bugün pratikte bunlara *Pasteurella multocida*'nın tek bir tipi gibi bakılmaktadır. *Pasteurella multocida* indirekt hemagglütinasyon duyarlılık testi (Carter, 1955) ya da jel difüzyon presipitin testi (Heddleston ve ark., 1972) ile serolojik olarak tiplendirilir. *Pasteurella multocida* kapsüler tip A antijeni acriflavin flokülasyon testi ile, *Pasteurella multocida* kapsüler tip B antijeni ise stafilokokal hyaluronidaz dekapülasyon testi ile belirlenir (Carter ve Rundell, 1965; Carter ve Subronto, 1973). Enfekte dokulardan yapılan sürme preparatlarda karakteristik olarak bipolar tarzda boyanırlar (Arda ve ark., 1997). Enfekte dokularda *Pasteurella multocida* en iyi Giemsa ile boyanmış preparatlarda demonstre edilir (Brenner, 1984). Aerob ya da fakültatif anaerob koşullarda kolayca üreyebilirler. *Pasteurella multocida* kapsül antijenine göre 5 tipe ayrılır. Bunlar A, B, D, E ve F tipleridir. Somatik antijene göre ise 16 tipe ayrılır ve birden on altıya kadar numaralandırılır (Brogden, 1980).

Bu tiplerden kapsüler tip A ve D ile somatik tip 1, 3, 4, 11 ve 12 tavşanlardan izole edilmiştir (Brogden, 1980; Chengappa ve ark., 1982; DiGiacomo ve ark., 1983, 1991; Lu ve ark., 1978). Carter (1955) tavşanlarda en yaygın olarak serotip A ve D'yi, Hagen (1958) ise B ve C serotiplerini izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Flatt ve Dungworth (1971b) pnömonik tavşan akciğerlerinden yapılan kültür çalışmalarında, *Pasteurella multocida* başta olmak üzere *Bordetella (Alkaligenes) bronchiseptica* ve *Staphylococcus aureus* izole edildiğini, *Mycoplasma* spp. izolasyon denemelerinin ise başarılı olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar *Pasteurella multocida* ve *Chlamydia* spp. ile intratraheal olarak inoküle edilmiş tavşanların akciğerlerinde lezyonların gelişimini ve gerilemesini incelemişlerdir. *Pasteurella multocida* tarafından meydana getirilen pnömoni doğal olarak oluşan hastalığa benzerken, *Chlamydia* spp. tarafından meydana getirilen lezyonların

mikroskobik olarak farklı olduğu ve bu nedenle tavşanlarda enzootik pnömoninin oluşmasında *Pasteurella multocida*'nın başlıca role sahip olduğu ileri sürülmüştür.

Hagen (1958) ise çalışmasında *Pasteurella multocida*'nın tavşan akciğer kültürlerinin % 54'ünden izole edilen en baskın mikroorganizma olduğunu, bunun yanında *Bordetella bronchiseptica* ve *Micrococcus pyogenes*'in de izole edildiğini, fakat daha az sıklıkta olduğunu belirtmiştir.

1.3. Hastalığın Ensidansı

Rinitisin ensidansına ilişkin kesin bir bilgi bulunmamaktadır. Bununla birlikte, rinitisin evcil tavşanlarda çok yaygın olarak gözlenen bir hastalık olduğu bilinmektedir. Farklı kolonilerdeki tavşanların %20-70 arasında değişen oranlarda hasta olduğunu belirten farklı kayıtlar vardır (Deeb ve ark., 1990; DiGiacomo ve ark., 1989, 1991). Webster (1924c,d) rinitisin ensidansında mevsimsel etkileri belirtmiş, yağışlı dönemlerde ve ilkbaharda ensidansın en yüksek düzeye ulaştığını, yazın ise en düşük düzeye indiğini bildirmiştir.

Klinik bulgu göstermeyen ve etiyolojik etkeni burun boşluğunda taşıyan tavşanların stresle zayıf düştükleri ve bunu izleyen bakteri çoğalması ile belirgin klinik hastalığın başladığı ileri sürülmektedir. Hastalığın oluşumunda stres faktörleri genellikle belirlenememiştir. Bununla birlikte, kötü hava koşulları, tavşanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar, gebelik, eşzamanlı hastalıklar ya da bu durumların bir arada bulunmasının stres faktörü olabileceği bildirilmiştir (Flatt, 1974).

Pnömonide koloni mortalite oranlarının %5-50 arasında olduğu, bu oranların pnömoni ensidansını doğru olarak yansıtmayabileceği, fakat hastalığın yaygınlığına ve şiddetine işaret edeceği bildirilmiştir (Flatt, 1974). Hagen (1958) çalışmasında 857 genç tavşanın 35'inde (%4) doğal solunum sistemi enfeksiyonu geliştiğini ve

bu hayvanların öldüğünü rapor etmiştir. Benzer bir çalışmada, Ostler (1961) kolonisindeki 200 tavşandan %27 sinin doğal olarak şekillenen pnömoni sonu öldüğünü belirtmiştir. Flatt (1974) doğal pnömoni olgularının çoğunun 4-6 haftalık tavşanlarda geliştiğini bildirmiştir.

Flatt ve Dungworth (1971a) insan tüketimi için kesilen 8-10 haftalık, klinik olarak sağlıklı görünen 3967 tavşanı pnömoni yönünden makroskopik olarak incelemişler ve hayvanların %20'sinde pnömoni tespit etmişlerdir.

Otitis medianın yaygın olarak oluştuğu bilinmektedir, fakat ensidansı hakkında tam bir bilgi yoktur. Genellikle tavşanların orta kulağının tortikollis görülmedikçe incelenmediği ve bu nedenle eldeki tek bilginin tortikollisin ensidansı olduğu belirtilmiştir. Otitis media ensidansının koloni içindeki *Pasteurella multocida* enfeksiyonunun ensidansı ve stres gibi birçok faktöre bağlı olarak değiştiği düşünülmüştür (Flatt, 1974).

Smith ve Webster (1925) nekropsileri yapılan 102 tavşanın orta kulaklarını incelemişler ve tavşanların %32'sinde orta kulaklardan birinde ya da her ikisinde irinli eksudata rastlamışlardır. Tortikollis gelişen kendi stok tavşanlarının %5'inin, farklı araştırma projelerinin sonunda nekropsileri yapılan tavşanların ise %45'inin orta kulağında irinli eksudat bulunduğunu belirtmişlerdir. Otitis medianın iç kulağa ilerleyebileceği ve klinik olarak %5'den az olguda tortikollis şekillendirebileceği ifade edilmiştir. Otitis mediaya yaş ve cinsiyet predispozisyonu olmadığı ve bazı tavşan hatlarında genetik yatkınlığın olabileceği bildirilmiştir.

1.4. Hastalığın Epizootiyolojisi

Glass ve Beasley (1989) *Pasteurella multocida* enfeksiyonunun çok genç yaşlarda meydana gelebildiğini, mikroorganizmaların doğum sırasında ve laktasyon süresince

enfekte anneden yavruya geçebildiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, olasılıkla maternal antikorlardan dolayı, etkenin çoğu tavşanda doğumdan sonraki ilk birkaç haftada koloni oluşturamadığını, fakat yaşla ilgili olarak enfeksiyonun prevalansının hızla arttığını belirtmişlerdir. Süt emziren enfekte dişi tavşanların yavrularında süttten kesildikten hemen sonra yapılan farinks kültürlerinin *Pasteurella multocida* yönünden pozitif olduğu görülmüştür (Nakagava ve ark., 1986). Aynı yaşlarda yapılan burun kültürlerinin daha az olarak pozitif olması ilgi çekici bir bulgudur (Deeb ve ark., 1990, DiGiacomo ve ark., 1983). Bu bulgular *Pasteurella multocida*'nın ilk koloni oluşturma yerinin farinks olduğunu ve sonra etkenin buruna geçerek yayıldığını düşündürmüştür. Erişkin tavşanlarda *Pasteurella multocida* ile enfeksiyon oranının arttığı ve enzootik olarak enfekte tavşanların %90'ının burun boşluğunda mikroorganizma barınabildiği belirtilmiştir (Deeb ve ark., 1990; DiGiacomo ve ark., 1983). Bunların yanında, hayvanların burun boşluğunda *Pasteurella multocida* olmayabileceği, fakat farinkslerinde sürekli mikroorganizma bulunduğu bildirilmiştir (Holmes ve ark., 1986).

DiGiacomo ve ark. (1987b) *Pasteurella multocida*'nın bulaşmasının genellikle ağız ya da solunum yoluyla olduğunu, mikroorganizmanın akut enfeksiyonlu hayvanlardan çok kolay bir şekilde geçtiğini, enfekte ve enfekte olmayan hayvanlar arasındaki direkt temasla çok hızlı olarak 8 gün kadar kısa bir sürede yayılabildiğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda aerosol bulaşmanın oldukça yavaş olduğu, enfekte ve enfekte olmayan hayvanların aynı odadaki ayrı kafeslerde bakılması durumunda 12 haftanın üzerindeki bir sürede bulaşma meydana gelebildiği belirtilmiştir (DiGiacomo ve ark., 1987a, b; Lelkes ve Corbett, 1983). Bu yavaş yayılma oranının enfekte ve enfekte olmayan tavşanların ayrı kafeslerde bakıldığında şekillenebileceği düşünülmüş, fakat uzun süreli çalışmalarda 3-6 ay bakılan tavşanlarda bu yolla geçişin olmayabileceği gösterilmiştir (DiGiacomo ve ark., 1983). Bu koşullar altında enfeksiyonun ne şekilde yayıldığı tam olarak gösterilememiştir. Rinitisli tavşanların *Pasteurella multocida* içeren burun akıntılarıyla suları sıklıkla bulaştırdıkları ve diğer objelerin de enfeksiyonda su kapları kadar etkili olabildiği, fakat cansız objelerde mikroorganizmanın yaşama süresinin bilinmediği belirtilmiştir (Holmes ve ark., 1983b).

Tavşanların bulaşık aletlerle, hava yoluyla ya da hasta tavşanlarla direk teması sonu *Pasteurella multocida* enfeksiyonuna yakalanabildiği bildirilmiştir. Tavşanların sadece taşıyıcı olabilecekleri gibi birkaç klinik formdan birini gösterebilecekleri de belirtilmiştir. Otitis mediadan önce şekillenen bir üst solunum yolu enfeksiyonunda, *Pasteurella multocida*'nın östaki borusu yoluyla orta kulağa geçerek enfeksiyona neden olabileceği, enfeksiyonun iç kulağı etkileyebileceği gibi bazı olgularda meninksleri ve beyin parenkimini de etkileyebildiği ve stresin orta kulaktaki mikroorganizmanın hem iç kulağa hem de beyine yayılmasında önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Flatt, 1974). Klinik olarak iyi görünen ve *Pasteurella multocida* izole edilen otitis medialis tavşanlarda birkaç günde tortikollis geliştiği, sonrasında tortikollisin ilerlemesiyle hayvanların daha da kötüleşerek öldüğü, tek taraflı otitis mediaya sahip tavşanlarda bazen irinli meningitis ve ensefalitisin de şekillenebildiği belirtilmiştir (Kpodekon ve ark., 1999).

Pasteurella multocida'nın reproduktif sistem yoluyla da geçebileceği bildirilmektedir. *Pasteurella multocida*'nın venereal geçişi ilk kez McKennedy ve Shillinger (1938) tarafından rapor edilmiştir. Bu araştırmacılar tavşan testislerinde apselerle karakterize olan bir genital sistem enfeksiyonunu bildirmişlerdir. Vaginanın da mikroorganizmayı sıklıkla taşıdığı, çiftleşme ve doğum sürecinde diğer tavşanlar için enfeksiyon kaynağı olabileceği belirtilmiştir (Holmes ve ark., 1983a).

Hastalığın erişkinlerde ve genç erişkinlerde meydana geldiği, dişilerde erkeklere oranla daha sık görüldüğü ve genital bulaşmanın enfekte erkek ile enfekte olmayan dişinin çiftleşmesi ya da bunun tersi durumlarında oluştuğu ileri sürülmüştür. Çiftleşmede enfekte ejakulatla ya da prepusyumla temasla enfeksiyonun oluşup oluşmayacağı bilinmemektedir. *Pasteurella multocida*'nın yayılmasında bu iki yolun da aynı şekilde etkili olabileceği bildirilmiştir. Enfekte erkek genital sistem yoluyla enfeksiyonun hemen tüm koloniye yayılabileceği belirtilmiştir (Flatt, 1974).

1.5. Hastalığın Klinik Formları

Pasteurella multocida enfeksiyonunun rinitis, pnömoni, otitis media ve interna, konjunktivitis, apseler, genital sistem enfeksiyonları ve septisemi gibi birçok klinik görünümü vardır. Çoğu tavşan aynı zamanda hastalığın birkaç klinik görünümüne birden sahip olabilir. Bunun yanında, uzun zaman klinik bulgu göstermeden mikroorganizmayı taşıyan enfekte hayvanlar da olabilir. Hastalığın klinik olarak ortaya çıkmaması konakçı direncine ve mikroorganizmanın virülensine bağlanmıştır (DeLong ve Manning, 1994; Flatt, 1974; Kpodekon ve ark., 1999).

1.5.1. Rinitis

Rinitis tavşan pastörellozisinde çok yaygın olarak görülür. Rinitis klinik olarak seröz, muköz ya da mukopurulent burun akıntısıyla karakterizedir. Bazen burun deliklerinde belirgin bir burun akıntısının olmadığı ya da az miktarda irinli bir eksudatın varlığı görülmüştür. Rinitisli tavşanlarda sesli soluk alıp verme, hapşırık, öksürük bulguları ile karşılaşmıştır (DiGiacomo ve ark., 1987b ve 1989; Flatt, 1974).

Rinitis tavşan işletmelerindeki kolonilerde genellikle sık karşılaşılan kronik bir bulgu olup ensidansın ilkbahar ve sonbahar aylarında çok yükselerek %60'lara kadar çıktığı rapor edilmiştir. Rinitis klinik bulgularının persiste enfeksiyonlarda sıklıkla artıp azaldığı, fakat iyileşmenin ve *Pasteurella multocida*'nın ortadan kaldırılmasının mümkün olduğu iddia edilmiştir. Rinitisin ilerlemesiyle konjunktivitis, apseler ve daha az olarak da otitis media meydana gelmiştir (DiGiacomo ve ark., 1983).

Rinitis klinik bulguları göstermeyen tavşanların yaklaşık %50'sinde burun deliklerinden *Pasteurella multocida* izole edilmiştir (Webster, 1924c,d; DiGiacomo

ve ark., 1983). Klinik bulguların ortaya çıkmasındaki değişkenlik nispeten bakteriyel virülensteki farklılığın yansıması şeklinde değerlendirilmiş, bununla birlikte bazı serotipler hem asemptomatik ve hem de rinitisli tavşanlardan izole edilmiştir (DiGiacomo ve ark., 1983). Enfeksiyona yanıtta konakçı faktörleri yanında kötü hava koşulları, gemiyle taşıma ve deneysel çalışmalar gibi stres faktörlerinin de etkili olduğu anlaşılmıştır (Flatt, 1974). Hatta bazı tavşan ırklarında rinitis ensidansının diğer ırklara göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Webster, 1927).

1.5.2. Pnömoni

Pnömonilerin tavşan kolonilerinde sıklıkla meydana geldiği, doğal enfeksiyonlarda ender olarak klinik bulgularla karşılaşıldığı ve bazen akciğer apseleri, plöritis ve pyotoraksla birlikte görüldüğü bildirilmiştir (Flatt ve Dungworth, 1971a). Yapılan araştırmalar pnömonili tavşan akciğerlerinde en yaygın etiyolojik etkenin *Pasteurella multocida* olduğunu göstermiştir (Alexander ve ark., 1952; Webster, 1926).

Her ne kadar akut olgularda ve bazen gözlenen epizootilerde pnömoni genellikle kronik ve asemptomatik ise de, şiddetli olgularda tavşanların iştahsız ve depresyonlu oldukları, fakat solunum güçlüğünün ender olarak gözlendiği bildirilmiştir. Spesifik klinik bulguların yokluğundan dolayı pnömoni teşhisinin genellikle nekropside yapıldığı belirtilmiştir. Belirgin olarak sağlıklı görünen 8-10 haftalık tavşanların yaklaşık %20'sinin makroskopik pnömoni lezyonlarına sahip olduğu görülmüştür (Flatt ve Dungworth, 1971a).

1.5.3. Otitis Media ve Interna

Otitis medialis tavşanlarda genellikle klinik bulgulara rastlanmamıştır. Eğer yangı iç kulağa yayılır ise tortikollis meydana gelebilir (Kunstyr ve Naumann, 1985; Smith ve Webster, 1925). Tavşan kolonilerinde yapılan nekropsilerde otitis media görülme sıklığı yaklaşık olarak %33'e ulaşabilirken, tortikollisli hayvanların oranının %5'in altında olduğu bildirilmiştir (Smith ve Webster, 1925). Tortikollisin basit bir orta kulak yangısından daha çok iç kulak ya da beyindeki bir enfeksiyonun sonrasında ortaya çıktığı vurgulanmıştır. Tavşanlarda tortikollisin farklı derecelerde görülebildiği, daha şiddetli olgularda hayvanın başını yattığı tarafa doğru eğdiği ve başı üzerinde yuvarlanabildiği, şiddetli olgularda ise yeterince yeme ve içme olmadığı ve ağırlık kaybı ile dehidrasyonun şekillenebildiği görülmüştür. Enfeksiyonun beyin ve meninkslere yayılması ile inkoordinasyon ve diğer sinirsel bulgulara rastlanmıştır. Fox ve ark. (1971) klinik ve subklinik otitis media olgularının her ikisinde de *Pasteurella multocida*'yı genellikle saf kültür olarak izole etmişlerdir. Fakat, olguların %5-10'unda *Bordetella bronchiseptica* ve *Staphylococcus aureus*'a rastlamışlardır.

1.5.4. Konjunktivitis

Konjunktivitis *Pasteurella multocida* enfeksiyonunun yaygın bir formu olmasına rağmen, ender olarak rapor edilmiştir. DiGiacomo ve ark. (1983) bir tavşan yetiştirmesinde konjunktivitis ensidansının rinitise göre ikinci sırada olduğunu kaydetmiştir. Flatt (1974) deneysel çalışmalar hariç tutulursa konjunktivitisli tavşanlardan genellikle *Pasteurella multocida* izole edildiğini ifade etmiştir.

Konjunktivitiste göz akıntısı, kemozis ve hiperemi ile karşılaşmıştır. Enfeksiyonun konjunktivaya burun boşluğundan nazolakrimal kanal yoluyla yayıldığı ve genellikle tek bulgunun epifora olduğu belirtilmiştir. Bu durumda enfeksiyon nazolakrimal kanalla sınırlanmıştır (Jones ve Carrington, 1988).

1.5.5. Apseler

Webster (1924a) ve Griffin (1952) *Pasteurella multocida* enfeksiyonlarında sıklıkla apse oluşumuna rastlandığını bildirmişlerdir. Subkutan apselerin en sık karşılaşılan tipi merkezi yumuşak olabilen sert apseler şeklinde tanımlanmıştır. Şişlik açıldığında koyu kıvamlı, krem renkli bir eksudatla karşılaşmıştır. Subkutan apselerin en sık görüldüğü yerler baş, boyun ve omuzu çevreleyen bölgelerdir; apseler ayrıca akciğer, genital sistem, beyin ve kalp gibi iç organlarda da ender olarak görülür. Spesifik klinik bulgular ender olarak bulunur ve teşhis genellikle nekropside yapılır. Tavşanlarda, diğer türlerdeki gibi *Pasteurella multocida*'ların apselerden direkt ya da hematojen olarak yayılarak bakteremiye yol açabileceği bildirilmiştir.

1.5.6. Genital Sistem Enfeksiyonları

Genital sistem enfeksiyonlarının hem erkek hem de dişi tavşanlarda meydana gelebileceği belirtilmiştir. Sistemin her kısmı etkilenebilir, fakat metritis, orşitis ve epididimitis ile çok sık karşılaşılır. Enfeksiyon genellikle venereal yolla bulaşır, ancak diğer bölgelerdeki enfeksiyonların hematojen yolla da yayılabildiği görülmüştür. Genital sistem enfeksiyonları sıklıkla kronik ve asemptomatik olmasına rağmen, yetiştirilen hayvanlarda gebe kalma oranında bir azalma ile karşılaşmıştır. Özellikle akut enfeksiyonlarda vagina akıntısı, kronik enfeksiyonlarda pyometra ve

masif uterus genişlemesi bildirilmiştir. Orşitisli ve epididimitisli tavşanlarda hastalığın akut döneminde testis ve epididimiste büyüme ve sonraki aşamada da apseleşme görülebilir (Flatt, 1974).

1.5.7. Septisemi

Webster (1924b) pastörelloziste rinitis ve pnömoni yanında özellikle septiseminin potansiyel bir öldürücü olduğuna dikkatleri çekmiştir. Ölüm çabuk şekillendiği için klinik bulguların genellikle gözlenmediği, fakat pastörellozisin diğer klinik formlarının eşzamanlı bulunabildiği belirtilmiştir. Teşhisin kanda ve parenkim organlarında *Pasteurella multocida*'nın bulunmasına bağlı olduğu bildirilmiştir (DeLong ve Manning, 1994).

1.5.8. Çeşitli Enfeksiyonlar

Pasteurella multocida'nın her sistem ya da organ enfeksiyonuyla birlikte olabileceği, osteomyelitis gibi alışılmadık enfeksiyonları da içerebileceği bildirilmiştir (Lienenberg ve Badger, 1984).

1.6. Hastalığın Patogenezi

Pastörellozisin patogenezi incelendiğinde farklı bulaşma yolları göze çarpmaktadır. Bunlar arasında doğal olgularda en çok aerosol ve oral yollar, patogeneze yönelik

deneyisel çalışmalarda ise çoğunlukla intranazal, intratraheal ve intravenöz yollar ile daha az olarak subkutan, konjunktival, intratestiküler ve intraperitoneal yollar dikkati çekmektedir (DeLong ve Manning, 1994; Flatt, 1974; Flatt ve Dungworth, 1971b; Glavits ve Magyar, 1990; Percy ve ark., 1986; Sokkar ve ark., 1987; Webster, 1925).

Percy ve ark. (1986) evcil tavşanlarda yaptıkları çalışmada, *Pasteurella multocida*'nın A:3 ya da D:3 serotipini aerosol, intravenöz ve intratraheal yolla inoküle etmişlerdir. Çalışmada mikroorganizmanın solunmasıyla etkili bir şekilde akciğer lezyonları meydana getirilememiştir; bu da üst solunum sisteminde solunan mikroorganizmaların tutulması ve uzaklaştırılması için etkili bir bariyerin görev yaptığını göstermiştir. Araştırmacılar A:3 serotipiyle intratraheal olarak enfekte edilmiş tavşanlarda 14. günde akciğer lezyonlarının meydana geldiğini, intravenöz olarak enfekte edilen tavşanların ise bir kısmında akciğer ve plöra lezyonlarının oluştuğunu bildirmişlerdir. Etkenin D:3 serotipi inoküle edilmiş tavşanlardaki lezyonların ise en alt düzeyde olduğu ve alt solunum sisteminde pastörellozis lezyonlarının bu üç inokülasyon yönteminden intratraheal yolla en iyi şekilde oluştuğu görülmüştür.

Webster (1925) *Pasteurella multocida*'nın farklı inokülasyon yolları üzerine bir çalışma yapmış ve intravenöz yolla inokülasyonun tavşanlarda akut akciğer lezyonlarının meydana getirilmesinde nispeten güvenilir bir yöntem olduğu sonucuna varmıştır.

Sokkar ve ark. (1987) çalışmalarında *Pasteurella multocida* suşunu tavşanlara intranazal ve oral yolla inoküle etmişler ve farklı inokulum dozları kullanmışlardır. Araştırmacılar oral yolla verilen dozun yarısını intranazal yolla inoküle etmişlerdir. Ölüm oranlarındaki farklılığının ne inokulumun veriliş yoluna ne de dozuna bağlı olmadığını ve bunun *Pasteurella multocida*'nın patojenik karakterlerindeki farklılıktan dolayı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Suşun farklılığı gibi, konakçı ve patojen arasındaki kontakt ilişki de *Pasteurella multocida*'nın virülensini etkileyen faktörlerden biridir. İnokülasyon yolundan bağımsız olarak tavşanların hemen tümünde solunum sistemine ilişkin patolojik lezyonların gelişmesine rağmen, inokülasyon yoluna bağlı olarak yalnızca patolojik değişikliğin formunda bir

farklılığın gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Örneğin, oral yolla enfekte edilen tavşanlarda interstisyel pnömoni tablosuyla karşılaşılırken, intranazal yolla enfekte edilen tavşanlarda çoğunlukla nekrotik irinli bronkopnömoni tablosu şekillenmiştir. Araştırmacılar bu bulgular sonucunda *Pasteurella multocida*'nın organizmada yayılımının solunum ya da kan dolaşımı yoluyla olduğunu bildirmişlerdir.

Lelkes ve Corbett (1983) kapalı ortamlarda bir arada tutulan tavşanlar arasında mikroorganizmaların solunum yoluyla yayıldığını göstermişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında birinci grupta *Pasteurella multocida* ile enfekte tavşanları enfekte olmayan tavşanlarla aynı kafese koymuşlar ve sağlam tavşanların enfekte olduğunu görmüşlerdir. Diğer grupta ise enfekte ve enfekte olmayan tavşanlar arada 10 adımlık mesafe bulunan iki ayrı kafese konmuş ve enfeksiyonun şekillenmediği gözlenmiştir.

DiGiacomo ve ark. (1987b) 12 haftalık genç tavşanların burun boşluğunda *Pasteurella multocida*'yı izole etmişler ve enfekte olan ve olmayan tavşanları bir arada tutmuşlardır. Altı aylık tavşanların yaklaşık %25'i enfekte olmuştur. Holmes ve ark. (1983b) çalışmalarında 1-5 günlük çok küçük tavşanlardan *Pasteurella multocida*'nın izole edilebileceğini ve beş günlükken ölen genç tavşanların akciğer ve karaciğerlerinden mikroorganizmayı tekrar izole ettiklerini kaydetmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar su içme kaplarının hastalığın yayılmasında çok önemli bir yol olduğunu, çünkü hasta hayvanların önemli bir kısmının burun akıntılarını su kaplarına bulaştırdıklarına dikkat çekmişlerdir.

Hagen (1958) çalışmasında doğumdan birkaç gün önce öldürülen fötüslerin akciğer ve kalp kanlarında *Pasteurella multocida* izole edilememesine ve yine iki günlük yavruların kalp kanı ve akciğerlerden pozitif kültürlerin üretilmemesine rağmen, 11-17 günlük tavşanlardan yapılan kültürlerden pozitif sonuç elde edildiğini tesbit etmiştir. Bu sonuçlara bağlı olarak araştırmacı, erişkin dişi tavşanların solunum sisteminde ve aynı zamanda genç yavruların akciğerlerinde *Pasteurella multocida*'nın bulunmasının doğumdan sonraki birkaç günde solunum yoluyla anneden yavruya doğal bulaşmayı gösterdiğini ileri sürmüştür.

Redondo ve ark. (1990) intratraheal olarak *Pasteurella multocida* ile enfekte edilen tavşanların akciğerlerinde bakterilerin alveol ve bronşiolle yerleşip endotoksinlerini salarak vasküler lezyonlar şekillendirdiğini ve bu lezyonların hipoksiye yol açarak alveol ve bronşiol epitel hücrelerinin nekrozuna neden olduğunu söylemişlerdir.

1.6.1. Enfeksiyonun Yayılması

Smith ve Webster (1925) ve Webster (1926) pastörellozisin genellikle burun boşluğunda başladıktan sonra direkt yayılımla çevre dokulara ya da kan yoluyla uzak bölgelere yayıldığını ileri sürmüşlerdir. Bu araştırmacılar intranazal enfeksiyonun tavşanlarda östaki kanalından direkt olarak yayılımıyla otitis medianın gelişmesine neden olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca intravenöz, intratestiküler ve subkutan yolla oluşturulan *Pasteurella multocida* enfeksiyonlarının pnömoni ile sonuçlandığını ve bunun hematojen yayılımın kanıtı olduğunu bildirmişlerdir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar etkenin direkt ya da hematojen olarak konakçıda yayıldığını doğrulamıştır. Tavşanlar burun ya da ağız yoluyla *Pasteurella multocida* ile inoküle edildiğinde sıklıkla pnömoni ya da otitis media şekillenmiştir (Lu ve Pakes, 1981; Percy ve ark., 1986). İntravenöz ya da intratraheal inokülasyonların da pnömoni ile sonuçlandığı bildirilmiştir. (Flatt ve Dungworth, 1971b; Percy ve ark., 1986).

1.6.2. Konakçı-Etken Etkileşimi

Çoğu enfeksiyöz hastalıkta olduğu gibi, *Pasteurella multocida* enfeksiyonunun ortaya çıkışı da konakçı ve organizma arasındaki etkileşime bağlanmıştır. Önce subklinik bir dönem olduğu ve bu dönemde belirgin bir hastalık gelişimi görülmediği bildirilmiştir. Hastalığın şekillenmesinin konakçının genetik yapısı ve çevresel faktörlere bağlı olan konakçı yanıtı ile kısmen kontrol edildiği belirtilmiştir. Hastalığa dirençli bir çok tavşanın taşıyıcı kaldığı, daha az dirençli tavşanların ise rinitis ve pnömoniye yatkın oldukları görülmüştür. Hastalığın ilerlemesinde bakteriyel virülensin etkili olduğu ve *Pasteurella multocida* suşlarının hastalık meydana getirme yeteneklerinin de farklı olduğu anlaşılmıştır. Bazı suşlar primer olarak rinitis şekillendirirken, diğerleri septisemi ve pnömoni şekillendirmiştir. Hastalığın klinik olarak ortaya çıkışının tavşanın direnci ve mikrobun virülensinden birine bağlı olduğu bildirilmiştir (DeLong ve Manning, 1994; Dillehay ve ark., 1990; Glavits ve Magyar, 1990; Percy ve ark., 1986; Webster, 1924e).

1.6.2.1. Konakçı Yanıtı

Genetik ve çevresel faktörlerin her ikisi de konakçı duyarlılığını etkiler. İlk kez Webster (1927) Chincilla ırkı tavşanlarda rinitis ensidansının ve pastörellozise bağlı ölüm oranlarının Blue Beveren ırkı tavşanlara göre üç kat daha fazla olduğuna işaret ederek genetik faktörlerin etkili olduğunu bildirmiştir.

Dillehay ve ark. (1990) ise *Pasteurella multocida* ile enfeksiyona Flemish Giant ırkı tavşanların Yeni Zelanda Beyazı tavşanlardan daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar her iki ırk tavşana da *Pasteurella multocida* A:3 serotipi inoküle edildikten sonra hayvanları 3 hafta izlediklerini ve 5 Flemish Giant ırkı tavşanın 4'ünde inokülasyon sonrası 6, 9, 12 ve 14. günlerde şiddetli klinik

değişiklikler gelişirken, Yeni Zelanda Beyazı tavşanların 1'inin inokülasyon sonrası 14. günde hastalandığını söylemişlerdir. Klinik olarak hastalıklı tüm tavşanlar incelendiğinde, fibrinopurulent plöritis, pyotoraks ve pnömoni lezyonlarının Flemish Giant ırkı tavşanlarda Yeni Zelanda Beyazı tavşanlardan daha şiddetli gelişmiş olduğunu belirtmişlerdir. İki ırk arasında lezyonların yaygınlığında önemli bir fark olmadığını, fakat pnömoni ve plöritis şiddetinin Flemish Giant ırkı tavşanlarda Yeni Zelanda Beyazı tavşanlardakinden üç kat daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir.

Webster ve Burn (1927) bireysel yanıtta geniş farklılığı her bireyin doğuştan gelen özelliklerine bağlamışlardır. Araştırmacılar sıcaklık değişiklikleri ve besin katkı maddelerinin konakçı yanıtı üzerindeki etkilerine bakarak çevresel etkileri incelemişlerdir. Günlük 12-32°C arasında değişen ısı farklılıklarının ensidans ve mortalitede önemli artışlara sebep olduğu bildirilmiştir.

Humoral bağışıklık pastörellozise konakçı direncinde bir mekanizmadır. *Pasteurella multocida* enfeksiyonunu izleyen 2-3 hafta içinde spesifik IgM ve IgE antikorları şekillenir (DeLong ve ark., 1992). Bu antikorlar letalite ve şiddetli klinik bulguların gelişiminin önlenmesinin kanıtı olmuştur. Örneğin, fare ya da tavşanlardan elde edilen hiperimmün serumun homolog mikroorganizmalara karşı mücadelede fareleri koruduğu belirtilmiştir (Collins, 1977). Benzer şekilde *Pasteurella multocida* ekstraktlarına karşı hazırlanmış tavşan hiperimmün serumunun tavşanları intranazal enfeksiyonlara karşı koruduğu rapor edilmiştir (Lu ve ark., 1987).

Pastörellozise karşı koruyucu humoral bağışıklığın mekanizması bilinmemektedir. İmmün serumun *in vitro* tavşan izolatlarına direkt olarak bakterisidal olmadığı ve bakteriyel opsonizasyonda immün olmayan serumla immün serumun etkilerinin yalışı olarak aynı olduğu belirtilmiştir (Hoffing ve ark., 1979; Rush ve ark., 1981). Spesifik antikorların bakterisidal ya da opsonik etkinliklerinin *in vivo* hücresel bağışıklık ve spesifik olmayan immün mekanizmaların etkileşimi ile artabileceği bildirilmiştir (DeLong ve Manning, 1994).

Antikorların pnömonide ve pastörellozisin diğer şiddetli bulgularında koruyucu etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Hem pasif hem de aktif olarak şekillenen antikorların taşıyıcı olma durumuna ya da rinitise karşı koruyucu olmadığı görülmüştür. Organizmada serum IgG ve IgA'nın önemli düzeylerde tutulduğu anlaşılmıştır (DeLong ve ark., 1992). *Pasteurella multocida*'nın en azından mukoza düzeyinde konakçı antikor yanıtını aşabilecek mekanizmalar geliştirdiği düşünülmüştür (DeLong ve Manning, 1994).

Pastörellozise karşı korunmadaki hücresel bağışıklığın önemi tam olarak açıklanamamıştır. Shope fibrom virusunun malign varyantı ile enfekte edilen tavşanlarda T hücre etkinliği baskılanmış, hayvanlar şiddetli pastörellozise karşı duyarlılaşmış, fakat B hücreleri de T hücreleri kadar baskılanmıştır (Corbeil ve ark., 1983).

Ateş ve nötrofil granülosit yanıtı gibi spesifik olmayan konakçı yanıtları *Pasteurella multocida* enfeksiyonuna karşı önemli bir savunma aracı olarak düşünülmüştür. *Pasteurella multocida*'nın dolaşıma katıldığı dönemlere paralel olarak ateşin arttığı görülmüştür. *Pasteurella multocida* ile enfekte yüksek ateşli tavşanlara antipiretikler verildiğinde mortalitenin arttığı, kan granülosit miktarlarının azaldığı, dalak ve karaciğerden önemli miktarlarda bakteri izole edildiği bildirilmiştir (Kluger ve Vaughn, 1978; Vaughn ve ark. 1981). DeLong ve Manning (1994) organizmada bakterilerin ortadan kaldırılması sırasında ateşin yükselmesinin olasılıkla nötrofil granülosit ya da monosit-makrofaj sisteminin etkinleşmesi ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Bertram (1986) inokülasyon sonrası 48. saatte nötrofil granülositlerin infiltrasyonunun azaldığı ve yerini mononükleer fagositlerin almaya başladığını ileri sürmüştür.

Nötrofil granülosit fonksiyonlarının *Pasteurella multocida* ile immunizasyonda ya da enfeksiyonda etkilenmediği görülmüştür. Bu nedenle değişikliğe uğramış nötrofil granülositlerin fonksiyonlarının pastörellozisin patogenezisinde önemli bir

rol oynamadığı düşünülmüştür. Hoffing ve ark. (1979) immunize, enfekte ya da enfekte olmamış tavşanlardaki nötrofil granulositlerin *Pasteurella multocida*'nın ortadan kaldırılmasında ve fagositozunda aynı oranda etkili olduğunu bildirmişlerdir.

1.6.2.2. Bakteriyel Virülens

Webster (1926) pastörelloziste bakteriyel virülensin önemini tavşanları mukoid ya da tip D olarak tanımlanmış suşlarla intranazal yolla inoküle ederek belirtmiştir. Araştırmacı çalışmasında mukoid suşların genellikle asemptomatik taşıyıcılık durumu oluştururken, tip D suşlarının burun boşluğunda açığa çıkma eğiliminde olduğunu ve bazen belirgin klinik hastalık şekillendirebildiğini bildirmiştir. Ayrıca, burun boşluğunda mukoid suşların mukoid olmayan suşlardan daha iyi koloni oluşturduğunu ileri sürmüştür. DeLong ve ark. (1992) çalışmalarında bu bulguları desteklemişlerdir.

Tavşanlardan genellikle *Pasteurella multocida*'nın kapsüler serotipleri olan A, D ve tiplendirilememişleri ile somatik serotipleri olan tip 3 ya da 12 izole edilmiştir (Brogden, 1980; Chengappa ve ark., 1982; DiGiacomo ve ark., 1983; Lu ve ark., 1983). Genelde kapsüler tip A ve somatik tip 12, kapsüler tip D ve somatik tip 3'den daha az şiddetli hastalığa sebep olur. Bu suşların etkinliği meydana getirdiği virülensi yükselten ve enfeksiyonu artıran toksinler, antifagositik maddeler ya da adhezinler gibi ürünlerden kaynaklanmaktadır (Carter ve Subronto, 1967).

Farklı çalışmalarda, tavşan pastörellozisinde tip A:3 ve A:12'nin çok önemli serotipler olduğu, bu serotiplerden A:3'ün A:12'den ve yine A:3'ün de D:3'den daha patojen olduğu gösterilmiştir (DiGiacomo ve ark., 1983; Percy ve ark., 1986).

Glorioso ve ark. (1984) adherens suşların intravenöz ve intranazal olarak inoküle edildiğinde, nonadherens suşlardan daha patojen olduğu sonucuna

varmışlardır. Farklı *Pasteurella multocida* kapsüler serotiplerinin adheziv özellikleri karşılaştırıldığında, A kapsüler serotipinin D kapsüler serotipinden yaklaşık on kez daha fazla oranda farinks epitel hücrelerine yapıştığı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda gösterilmiştir. Farinks epitel hücrelerine yapışmanın bakterideki N-acetyl-D glukozamin reseptörlü bakteriyel fimbriadan kaynaklandığı ifade edilmiştir.

Eksotoksin, özellikle kapsüler tip D'ninkiler olmak üzere, *Pasteurella multocida*'nın bazı izolatları tarafından meydana getirilir. Tip D izolatları bazen yüksek virülens ve şiddetli pnömoni ya da sepsisemiye neden olabilecek kapasitededir. Bunların domuzlarda atrofik rinitise de yol açabilen 149.000 molekül ağırlıklı toksin proteinlerine ilişkili olduğu görülür. Tavşanlarda purifiye toksinin pnömoni, plöritis, karaciğer nekrozu, lenfoid atrofi ve olasılıkla burun turbinata kemiklerinde atrofiye de neden olabileceği bildirilmiştir (Chrisp ve Foged, 1991).

Pasteurella multocida endotoksininin ateş, santral sinir sistemi depresyonu ve şoka neden olabildiği görülmüştür. Sepsisemik tavşanlarda, serbest endotoksin plazmada bulunur; klinik hastalıkta önemli bir rol oynamasına rağmen, mekanizması açık değildir (Anderson ve ark., 1984). Etkenler tarafından salınan bakteriyel endotoksinlerin şemotaksik etki göstererek nötrofil granülositlerin alveol ve bronşiol lumenlerine göçüne ve fiziksel obstruksiyona, sonrasında ise mononükleer fagositlerde şemotaksise neden olduğu belirtilmiştir (Markham ve Wilkie, 1980; Slocombe ve ark., 1984). Endotoksinin sepsiseminin önemli bir nedeni olabileceği düşünülmesine rağmen, *Pasteurella multocida* ile pastörellozisin çok yaygın sendromları arasındaki direkt ilişkiyi gösteren kesin bir bilgi bulunmamaktadır.

Enfekte dokularda çok sayıda nötrofil granülositin bulunmasına rağmen mikroorganizmalara rastlanması, *Pasteurella multocida*'ların başka mekanizmalarla konakçı savunmasını atlattığı görüşünü desteklemektedir. Çalışmalar bazı tavşan *Pasteurella multocida* izolatlarının gerçekten fagositoza ve öldürülmeye dirençli olduğunu göstermiştir, fakat bakteriyel direnç ve virülens arasındaki ilişki açık değildir (Anderson ve ark., 1984; Rush ve ark., 1981).

Pastörelloziste önemli olabilen bir başka bakteriyel özellik adhezinlerin üretimidir. Tavşan pastörellozisinin etkenlerin üst solunum sisteminde, genellikle bakteriyel adhezinlerin üretimi ile kolaylaştırılan, koloni oluşturmasıyla başladığı bildirilmiştir. Tip A suşlarının farinks epiteline, tip B, D ya da E suşlarından daha iyi yapıştığı ya da bağlandığı, bunun da üst solunum sisteminden tip A mikroorganizmaların yüksek oranda izole edilmesi ile uyumlu olduğu görülmüştür (Glorioso ve ark., 1982).

1.7. Hastalığın Patolojisi

1.7.1. Makroskopik Bulgular

Pastörellozisin makroskopik lezyonları akut ya da kronik irinli yangı tipinde tanımlanmıştır. Eksudatın çok sık olarak görüldüğü ve enfeksiyonun süresine bağlı olarak seröz ya da mukoid olabileceği belirtilmiştir (DeLong ve Manning, 1994).

Patolojik değişikliklerin hastalığın süresine bağlı olduğu ve hastalığın akutten kroniğe kadar değiştiği bildirilmiştir. Rinitis makroskopik olarak bazen mukoza erozyonlarıyla birlikte olan hiperemi ve ödemle karakterize olur. Uzun süren olgularda mukoza normal rengini korur, ancak hafiften orta dereceye kadar kalınlaşır. Burun boşluğu ve paranasal sinuslarda serözden müköze ya da mukopurulente kadar değişen eksudat bulunur. Burun turbinata kemikleri erimiş ya da atrofik olabilir (DiGiacomo ve ark., 1989, 1991).

Pnömoninin makroskopik özellikleri hastalığın süresine ve şiddetine göre değişir. Lezyonlar akciğerin her bölgesinde bulunabilmesine rağmen, özellikle kranioventral bölgelerin etkilendiği görülmüştür. Makroskopik lezyonlar

konsolidasyon, atelektazi, apse ve küçük, gri nodüler odaklar şeklindedir. Konsolidasyon sahalarının koyu kırmızı renkte olduğu ve keskin bir sınırla normal komşu dokulardan ayrıldığı görülmüştür. Akciğer parenkiminde kanama ile karşılaşılabilceği ve plöra yüzeyinin fibrinle kaplanmış olabileceği bildirilmiştir. Sonuçta rezolüsyon meydana gelebildiği gibi belirgin bir atelektazi de şekillenebilir. Eğer pnömoni şiddetliyse fibröz dokuyla çevrili apseler bulunabilir. Kronik olguların son döneminde apselerin kavitasyona uğradığı ya da loblar içine yayıldığı görülebilir (Flatt ve Dungworth, 1971a,b; Hagen, 1958).

Flatt ve Dungworth (1971a) insan tüketimi için kesilen tavşanların akciğerlerinde yaptıkları istatistik çalışmalarında, 8-10 haftalık tavşanların %20'sinin akciğerlerinde makroskopik lezyon gördüklerini ve bu lezyonların akciğerlerin kranioventral bölgelerinde yerleştiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar düzensiz atelektazi alanlarının çok yaygın, konsolide bronkopnömoni alanlarının daha az ve apselerin bazen görüldüğünü bildirmişlerdir. Bunlara ek olarak, genellikle küçük kan damarları ve hava yolları çevresinde lenfoid hücre birikimlerinden dolayı şekillenen küçük gri odakların varlığından da söz etmişlerdir.

Nair ve ark. (1987) doğal pastörellozis ile karşılaştıkları tavşanlarda yaptıkları ayrıntılı nekropsi incelemesinde akciğerlerin büyüdüğünü, kıvamlarının arttığını ve koyu kahve renkte olduklarını belirtmişlerdir. Akciğerlerin özellikle kranial ve kaudal lobların anterior üçte birlik kısımlarının etkilendiğini görmüşlerdir. Trahea mukozasının diffuz olarak hiperemik ve ödemli olduğu, fokal alanlar halinde kan pıhtıları gözlendiği belirtilmiştir. Akciğerlerin kesit yüzlerinden seröz-kanlı sıvı sızdığı, büyük bronşların köpük içerdiği ve bronşial lenf düğümlerinin hafif olarak büyüdüğü ve şiddetli olarak da ödemli olduğu ifade edilmiştir.

İntranazal olarak enfekte edilmiş çok sayıda tavşanda trahea mukozasının eksudatla kaplı ve hiperemik olduğu, akciğerlerde diffuz ve bazen de apikal ve kardiak lobların ventral yüzleriyle sınırlı konsolidasyon şeklinde görülen supuratif bronkopnömoni alanlarının varlığı bildirilmiştir. Bazen de akciğerlerde sarı-beyaz kazeöz nodüllere rastlanmıştır (Sokkar ve ark., 1987).

İntratraheal inokülasyon sonrası şekillenen makroskopik lezyonlar solunum sistemiyle sınırlıdır. İntratraheal inokülasyondan 2 gün sonra öldürülen tavşanların akciğerleri incelendiğinde, hilus yakınında birkaç küçük, açık krem renginde konsolidasyon alanı görülmüştür. Etkilenen alanların akciğer parenkiminin derinlerine kadar ilerlediği ve hava yollarında da az miktarda eksudata rastlandığı ifade edilmiştir. İnokülasyondan sonraki dördüncü günde akciğerlerin çoğunun apikal ve kardiyak loblarının fokal krem rengi konsolidasyon alanları içerdiği ve bu lezyonların ikinci günde kilere, daha yaygın ve şiddetli olması dışında, benzediği belirtilmiştir. Bazı akciğerlerde kranial lobların diffüz olarak konsolide, şişkin ve morumsu kırmızı renkte olduğu ifade edilmiştir. Bu akciğer loblarının üzerlerinin ince bir fibrin tabakası ile örtülü durumda bulunduğu, kesit yüzlerinin morumsu kırmızı renkte olduğu ve hava yollarında eksudata rastlandığı bildirilmiştir. Altıncı günde tüm akciğerlerin koyu kırmızı renkte ve şiddetli derecede konsolide olduğu, ayrıca fibrinin plörayı kapladığı görülmüştür. İnokülasyondan sonraki 8-17. günler arasında altıncı günde görülenlere benzer lezyonlar görülmüştür. On sekizinci günde akciğerlerin hem atelettazi odaklarını ve hem de küçük konsolidasyon alanlarını içerdiği saptanmıştır. Bu lezyonlar pnömoninin rezölasyon devresi olarak değerlendirilmiştir (Percy ve ark., 1986).

Aerozol olarak *Pasteurella multocida* ile enfekte edilmiş tavşanlarda histolojik pnömoni lezyonları en alt düzeyde gözlenmiştir (DiGiacomo ve ark., 1991).

Otitis medianın erken makroskopik lezyonları orta kulakta seröz-kanlı sıvı toplanması ve timpanik membranın kırmızılaşmasıdır. Kronik olgularda ise orta kulak koyu renkte, kalın kremimsi eksudat ile dolar. Smith and Webster (1925) otitis medianın tavşanların yaklaşık %30'unda kulağa ilişkin klinik belirti görülmeksizin şekillendiğini belirtmişlerdir. Bazen orta kulak enfeksiyonunun iç kulak ve beyine yayıldığı ve supuratif meningoensefalitis ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Sokkar ve ark., 1987).

Pastörellozisin diğer formları hastalanmış doku ve organlarda purulent eksudat birikimi ile karakterizedir. Eksudatın miktar ve yoğunluğu enfeksiyonun süresi ve şiddetiyle değişir. Apseler geniş ve kapsüllü olabilir. Genital sistem enfeksiyonları pyometra ya da testis apselerine kadar ilerleyebilir. Bir ya da her iki uterus hafiften şiddetli dereceye kadar büyümüş olabilir. Çok akut bir şekilde enfekte olmuş uterus, hafif bir büyüme ve lumeninde sulu, gri bir eksudatın varlığı bildirilmiştir. Kronik olarak etkilenmiş uterus aşırı oranda büyür ve uterus duvarı inceler. Rengi, lumenin koyu krem renkli eksudatla dolu olmasına bağlı olarak bu renkte görülebilir. Bazı olgularda uterusun yalnızca anterior kısmında eksudatla karşılaşmıştır (DeLong ve Manning, 1994).

Septisemik pastörellozis lezyonları ender olarak görülür. Makroskobik ve mikroskobik olarak viseral organların konjesyonu ve fokal subserozal ya da subkutan kanamalar bildirilmiştir (DeLong ve Manning, 1994).

1.7.2. Mikroskobik Bulgular

Tavşanlarda doğal pastörellozis olgularında mikroskobik bulgular makroskobik bulgulara paralel olarak özellikle solunum sisteminde lokalizedir. Akut rinitiste, burun boşluğu dejenere nötrofil granülosit, fibrin ve mukusu değişen oranlarda içeren eksudatla iki taraflı olarak doludur. Mukozada konjesyon, ödem ve fokal mukoza erozyonu ile submukozada çoğunluğunu nötrofil granülositlerin oluşturduğu yangısal hücre infiltrasyonu vardır. Yangının subakuttan kroniğe geçtiği dönemde burun boşluğunda genellikle mukus ve bakteri ile karışık farklı dejenerasyon aşamasında çok sayıda nötrofil granülosit bulunur. Mukoza epiteli hiperplazik olup siliumların sayısı azalmış, goblet hücrelerinin sayısı artmıştır. Lamina propria'da bol miktarda ödem sıvısına ve yangısal hücrelere rastlanmıştır. Bazı sahalarda epitelin aşınabildiği belirtilmiştir. Turbinata kemiklerinin osteoblastların ve osteoklastların sayısının artmasıyla başlangıçta düzensiz bir yapı kazandığı ve ilerlemiş olgularda

ise atrofi ve periostal fibroblastlarda hiperplazi şekillendiği bildirilmiştir (DiGiacomo ve ark., 1989, 1991; Jones, 1988; Webster, 1924b).

Histolojik olarak en tipik akut lezyon fibrinopurulent ve nekrotik bronkopnömonidir. Hava yollarında ve alveollerde fibrinopurulent eksudat vardır. Nötrofil granülositler en sık görülen hücre tipi olmakla birlikte bol miktarda makrofaj ve eritrosit de bulunur. Kronik olgularda apseler yaygın olarak fibröz doku ile çevrelenmiş iken kan damarları çevresinde yoğun lenfoid hücre toplanmaları vardır. Hava yolları epiteli nekrotiktir ve nekroz komşu akciğer parenkimine yayılabilir. Bronkopnömoni sıklıkla fibrinopurulent plöritis, perikarditis ve pyotoraksa birlikte (Flatt ve Dungworth, 1971a,b).

Nair ve ark. (1987) pastörellozisli tavşanların akciğerlerinin incelenmesinde kapillarların şiddetli genişlediğini, alveollerin çoğunluğunun nötrofil granülosit ve lenfositleri içeren eksudatla dolu olduğunu, parenkimde fokal nekroz ve kanama alanlarının bulunduğunu, bronşiol lumenlerinin eksudat ve nekrotik artık içerdiğini ve çevrelerinde yangısal hücrelerin oluşturduğu bir manşet görüldüğünü belirtmişlerdir. Trahea mukozasında orta dereceden şiddetliye değişen hiperemi, erozyon ve ülserler görülmüştür. Lenf düğümlerinde konjesyon, germinal merkezlerde etkinleşme ve retiküler hiperplazi saptanmıştır. Karaciğerde sinuzoidlerin genişlemiş olduğu, fokal dejenerasyon ve nekroz alanları içerdiği ve portal sahalarda nötrofil granülosit ve lenfoid hücre infiltrasyonları gözlenmiştir. Araştırmacılar böbrekte tubüler dejenerasyon ve nekroz ile özellikle glomeruluslar çevresinde fokal nötrofil granülosit infiltrasyonu olduğunu bildirmişlerdir.

Makroskobik olarak kranioventral akciğer loblarında görülen konsolide bronkopnömoni alanları mikroskobik olarak incelendiğinde kataralden fibrinopurulent bronkopnömoniye kadar değişen bir tabloyla karşılaşılmaktadır. Bu alanlardaki alveol duvarları alveol hücrelerinin şişkinleşmesi ve interalveoler kapillarlar içinde nötrofil granülositlerin toplanması nedeni ile kalınlaşır. Küçük bronşiollerde ve bronşiolle komşu alveol lumenlerinde değişen miktarlarda nötrofil granülosit ve makrofaj bulunur. Şiddetli enfeksiyon olgularında lezyonlar akciğer

parenkiminin tamamını kaplar. Alveol boşluklarında nötrofil granülosit ve makrofajlara ek olarak fibrin ve proteinli sıvı da bulunur. Bazen de fokal kanama ve nekroz alanları ile apselere akciğer parenkiminde rastlanabilir. Göğüs boşluğu açıldığında fibrinopurulent plöritis ve perikarditis sık karşılaşılan bulgular arasındadır (DiGiacomo ve ark., 1991; Dillehay ve ark., 1990; Flatt ve Dungworth, 1971a,b; Hagen, 1958).

Solunum sistemi bulgularına ek olarak sıklıkla otitis media ve konjunktivitise, seyrek olarak da orşitis, pyometra ve supuratif meningoensefalitise rastlanabilir (DiGiacomo ve ark., 1983, 1991; Manning ve ark., 1989).

Sokkar ve ark. (1987) intranazal olarak enfekte ettikleri tavşanların akciğerlerinin mikroskopik incelemesinde serofibrinöz ya da fibrinopurulent plöritis, peritonitis, perikarditis, interstisyel nefritis ve hepatositlerde vakuoler dejenerasyon kaydetmişlerdir. Karaciğerdeki kan damarlarının lumenlerinde nötrofil granülositler görülmüştür. Dalaktaki lenfoid folliküllerde nekroz ve retiküloendotelial hücrelerin etkinliğine rastlanılmıştır. Bazı tavşanların beyinde konjesyon ve mikroapseler gözlenmiştir. Araştırmacılar supuratif meningitis de saptamışlardır.

Glavits ve Magyar (1990) 8-10 haftalık tavşanları *Pasteurella multocida*'nın 3:A, 4:A ve 12:A serotipleri ile intranazal olarak enfekte ettiklerini, ölen tavşanların nekropsi ve histolojilerinde göğüs boşluğunda bol miktarda fibrinopurulent eksudat, seröz rinitis, traheitis, akut nekrotik hepatitis, lenfoid organ ve dokularda başlangıçta atrofi sonrasında ise hiperplazi ile karşılaştıklarını belirtmişlerdir.

Flatt ve Dungworth (1971b) intratraheal olarak enfekte ettikleri tavşanlarda inokülasyon sonrası ilk günlerde akut kataral bronkopnömoni saptamışlardır. Bronşiol epitellerinde yer yer dejenerasyon ve nekroz görülmüş, lumenlerinde bol miktarda nötrofil granülosit gözlenmiştir. İnteralveoler septumlar alveol hücrelerinin şişmesi ve kapillarlarda nötrofil granülositlerin birikmesinden dolayı kalınlaşmıştır. İnokülasyon sonrası 4-6. günlerde alveol lumenlerinin ödem, fibrin, eritrositler, çoğu dejenere olmuş nötrofil granülositler ve makrofajlarla dolu olduğu, alveol

kapillarlarının çoğunun konjesyonlu olduğu ve nötrofil granülosit içerdiği, plöranın fibrin ve dejenere nötrofil granülositlerle kaplı olduğu ve fokal parenkimal nekroz alanlarının bulunduğu fibrinopurulent ve nekrotik pnömoni alanları gözlemlemişlerdir. Alveoller içindeki birkaç makrofaja çok çekirdekli dev hücresi formunda rastlandığını rapor etmişlerdir. İnokülasyon sonrası 8-17. günler arasında ölen tavşanların akciğerlerinde ise fibrinopurulent ve nekrotik pnömoniye rastlandığı, lezyonların altıncı gündeakilere benzer fakat daha şiddetli olduğunu belirtmişlerdir.

İntravenöz olarak enfekte edilen tavşanların %50 sinde fokalden diffuza kadar değişen pnömoni lezyonları görülmüştür. Alveollerde nötrofil granülosit ve makrofajların bulunduğu, interstisyel bölgede belirgin mononükleer hücre infiltrasyonu şekillendiği belirtilmiştir. Daha büyük hava yollarında yangısal eksudatla karşılaşmıştır (Ostler, 1961).

Pastörellozisin diğer formlarındaki mikroskobik lezyonların supuratif yangıyla karakterize olduğu belirtilmiştir. Epitelle döşenmiş organların lumenlerinde epitel hücre döküntüleri ve nötrofil granülositlerin, epitel katında ülserleşmelerin ve altındaki dokuda ise yangısal hücre infiltrasyonlarının olabileceği belirtilmiştir. Subkutan dokularda yangılanmış sahalar kalın fibröz kapsülle çevrelenmiştir (DeLong ve Manning, 1994).

1.7.3. Elektron Mikroskobik Bulgular

Redondo ve ark. (1990) intratraheal *Pasteurella multocida* tip E ile enfekte ettikleri 25 tavşanı 12, 24, 48, 72 ve 120 saat sonunda öldürmüşler ve akciğerleri morфометrik, histolojik ve ultrastruktural olarak incelemişlerdir. Ultrastruktural değerlendirmede inokülasyon sonrası 12-24. saatte tip I pnömonositlerde önemli bir değişiklik görülmediğini, tip II pnömonositlerde farklı morfolojilerde lamellar cisimciklerin olduğunu ifade etmişlerdir. Alveol makrofajlarının alveol duvarına

yakın bulunduğunu ve sitoplazmalarının etkinleşerek sitoplazmik vakuollerin geliştiğini, bakteriyel fagositozisin ya da atık materyalin olmadığını belirtmişlerdir. Bronşial yapılarda, özellikle terminal bronşiollerde şiddetli ödem, az miktarda eritrosit, nötrofil granülosit, eozinofil ve bakteri kümeleri içeren yangısal eksudat gözlendiği, bronşiol epitelinin belirgin olarak düzensiz şekilde olduğu, aralarda hipertrofik, dejenere ve nekrotik hücrelerin seçilebildiği, interalveoler septumda ise şiddetli ödem ve nötrofil granülositlerin yer aldığı hücre eksudasyonu saptanmıştır. Araştırmacılar 48. saatte tip I pnömonositlerin aynı durumda olduğunu, tip II pnömonositlerde özellikle lamellar cisimciklerde belirgin değişikliklerin bulunduğunu, alveol makrofajlarının alveoler septumla temas halinde olduğunu gözlemişlerdir. Değişikliklerin özellikle kapillar endotelinde olduğu, bunun da interalveoler septumda şiddetli hücre ve plazma eksudasyonuna neden olduğu ifade edilmiştir. İnteralveoler septumda çoğunlukla nötrofil ve eozinofil granülositlere, az sayıda makrofaj ve serbest eritrosite rastlanmıştır. Bronş ve bronşiollerde parietal hücre dejenerasyonu görülmüştür. Bronş ve bronşiol epitelinde yer yer nekroz alanlarına rastlanmıştır. Alveol lumenine dökülmüş dejenere epitel hücreleri saptanmıştır. Araştırmacılar 72. ve 120. saatlerde nekropsileri yapılan tavşanların akciğerlerinin ultrastruktural incelemesinde ise tip II pnömonositlerin alveol lumenine ve interalveoler septuma doğru genişlediklerini, hücrelerde dejenerasyon şekillendiğini ve lumene bakan kısımdaki plazma membranlarının küçük vakuoller içeren psödopodlara sahip olduğunu bildirmişlerdir. Makrofajların alveol lumenlerine yapıştığı ve bunların sitoplazmalarında bol miktarda lizozom ve hücre sindirim artık ürünlerinin bulunduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar alveol lumenlerinde çok sayıda nötrofil granülosit ve az sayıda makrofajın bulunduğunu ve makrofajların 72. saatten sonra bakteri ve hücre artıklarını fagosit ettiklerini belirtmişlerdir. Bu dönemde vasküler yapılarda da şiddetli değişikliklerin olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışma, tavşan pastörellozisinin farklı inokülasyon yollarıyla deneysel olarak oluşturularak patogenezi ile ilgili yeni bilgilerin elde edilmesi, hastalık hakkında daha geniş ve kapsamlı bilgi sahibi olunması ve akciğer lezyonlarına ilişkin

literatürdeki yetersiz elektron mikroskopik bilgilere katkıda bulunulması amacıyla yapılmıştır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanı

Bu çalışma Yeni Zelanda ırkı tavşanlarda yapıldı. Çalışmada özel bir işletmeden 2-2.5 kg ağırlığında, 6-8 haftalık, 42 adet tavşan temin edildi. Bunların 6 adedi kontrol, 36 adedi deneme hayvanı olarak kullanıldı. Denemelere başlamadan önce hayvanların burun svapları alınarak *Pasteurella multocida* yönünden mikrobiyolojik olarak test edildi. Çalışma süresince tüm tavşanlar ayrı kafeslerde bakıldı ve *ad libitum* olarak beslendi.

2.2. Suşun Temin Edilmesi

Tavşanlarda deneysel enfeksiyon oluşturmak için kullanılan Davis, California orijinli, 2131 referans numaralı, tavşan kaynaklı, *Pasteurella multocida* 3:A serotipi Amerika Birleşik Devletleri, Ames, Iowa'daki Midwest Area National Animal Disease Center'da görevli Dr.Richard Rimler'den temin edildi.

2.3. Suşun Karakterizasyonu

Dr.Richard Rimler'den temin edilen tavşan orijinli *Pasteurella multocida* 3:A serotipi laboratuvarında kültürel, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri incelenerek karakterize edildi (Tablo. 1). Suşun karakterizasyonu, inokulumun hazırlanması ve

mikrobiyolojik incelemeler Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

Tablo 1. *Pasteurella multocida* 3:A serotipinin kültürel, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

Özellik	Reaksiyon
Stok Numarası	3015
Bakteri türü	<i>Pasteurella multocida</i>
Kapsül serogrubu	A
Somatik serotip	3
Gram	negatif
Katalaz testi	+
Nitrat Redüksiyonu	+
<i>Fermentasyon testleri</i>	+
Dekstroz	-
Laktoz	+
Sukroz	-
Dulcitol	-
Raffinoz	-
Maltoz	+
Ksiloz	-
İnositol	-
Dekstrin	-
Litmus milk	+
İndol	-
<i>Hareket</i>	-

2.4. İnokulumun Hazırlanması

Karakterleri önceden belirlenen ve kanlı agarda 24 saat süre ile üretilen *Pasteurella multocida* 3:A serotipi daha sonra 5 ml triptoz buyyona pasaj edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda buyyon kültürlerinin Gram boyama ile saflık kontrolü yapılarak saf bulunan kültürlerden, içinde 500 ml triptoz agar bulunan Roux şişelerine pasaj yapıldı ve besi yerleri 37°C'de 48 saat süre ile inkübe edildiler. İnkübasyon süresi sonunda Roux şişelerinde meydana gelen üreme % 0.5'lik formollü FTS ile toplandı. Bu şekilde toplanan hücreler normal FTS ile 3000-3500 rpm'de 30 dakika santrifüje edilerek üç kez yıkandıktan sonra, şekillenen pelet FTS ile McFarland No:1'e göre sulandırıldı.

2.5. Deneysel Enfeksiyonun Oluşturulması

Hayvanlar 3 gruba ayrılarak, 3 ayrı yolla etken verildi. Her grupta 12'si deneme, 2'si kontrol olmak üzere 14 tavşan bulunmaktaydı. Birinci gruptaki deneme hayvanlarına intranazal, ikinci gruptakilere intratraheal ve üçüncü gruptakilere ise intravenöz yolla etken verildi. Kontrol gruplarına ise aynı yollarla serum fizyolojik verildi.

2.5.1. İntranazal İnokülasyon

Bu gruptaki deneme tavşanlarının her bir burun deliğine iğnesiz enjektör yardımı ile 0.5×10^8 CFU/ml dozunda 0.5'er ml bakteri süspansiyonu damlatılarak inokülasyon yapıldı. Kontrollerin burun deliklerine ise aynı miktarda serum fizyolojik damlatıldı.

2.5.2. İntratraheal İnokülasyon

Bu gruptaki 12 adet deneme tavşanının Rompun-Ketalar anestezisi altında boyun altı bölgesinin traş ve dezenfeksiyonu yapıldı. Sonra bu bölge derisi 0.5 cm uzunluğunda ensize edildi. Bu bölgedeki trahea halkaları arasına 2 mm çaplı plastik tüp geçecek şekilde bir ensizyon daha yapıldı. Plastik tüp traheanın bifurkasyon noktasına kadar ilerletilerek dışta kalan ucuna takılan bir enjektör yardımı ile 0.5×10^8 CFU/ml dozunda 0.5 ml bakteri süspansiyonu inoküle edildi. Gruptaki 2 adet kontrol tavşanına ise yine aynı yol ile 0.5 ml serum fizyolojik verildi.

2.5.3. İntravenöz İnokülasyon

Bu gruptaki 12 adet deneme tavşanının kulak venasına 0.5×10^7 CFU/ml dozunda 0.5 ml bakteri süspansiyonu enjekte edildi. Kontrollere ise aynı yol ile aynı miktarda serum fizyolojik verildi.

2.6. Deneme Planı

Belli inokülasyon yollarıyla enfekte edilen tavşanlar ve kontrolleri gözlem altında tutuldu. Deneme hayvanlarının 4'erli gruplar halinde inokülasyon sonrası 6, 10 ve 14. günlerde listenon verilerek ötanazi ile uyutulması ve nekropsilerinin yapılması planlandı (Tablo 2).

Tablo 2. Deneme planı

Grup	Deneme hayvanı sayısı	İnokülasyon yolu	Bakteri dozu	İnokülasyon sonrası nekropsi süreleri (gün)
Ia	4	İN	0.5×10^8 CFU/ml	6
Ib	4	İN	0.5×10^8 CFU/ml	10
Ic	4	İN	0.5×10^8 CFU/ml	14
I Kontrol	2	İN	0,5 ml serum fizyolojik	14
IIa	4	İT	0.5×10^8 CFU/ml	6
IIb	4	İT	0.5×10^8 CFU/ml	10
IIc	4	İT	0.5×10^8 CFU/ml	14
II Kontrol	2	İT	0,5 ml serum fizyolojik	14
IIIa	4	İV	0.5×10^7 CFU/ml	6
IIIb	4	İV	0.5×10^7 CFU/ml	10
IIIc	4	İV	0.5×10^7 CFU/ml	14
III Kontrol	2	İV	0,5 ml serum fizyolojik	14

İN: intranazal, İT: intratraheal, İV: intravenöz

2.7. Mikrobiyolojik İnceleme

Mikrobiyolojik inceleme amacı ile tavşanlardan akciğer, karaciğer, dalak, böbrek ve kalp alındı ve % 5-7'lik koyun kanlı agara direkt yöntemle ekimleri yapılarak 37 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. Süre sonunda kültürler *Pasteurella multocida* kolonileri yönünden muayene edildi.

2.8. Histopatolojik İnceleme İçin Doku Kesitlerinin Hazırlanması

İnokülasyon sonrasında belli zamanlarda nekropsileri yapılan tavşanlardan burun mukozası, trahea, akciğer, kalp, karaciğer, dalak, böbrek, bağırsak, mide, idrar kesesi, beyin, beyincik, lenf düğümü, adrenal bez ve pankreas alındı. Örnekler tamponlu %10'luk formalinde ve Bouin solüsyonlarında tespit edilip 24 saat sonra trimlendi ve postfiksasyonları yapıldı. Bouinle tespit edilen doku örnekleri direkt alkol ve ksilolle, formalin solüsyonunda tespit edilen doku örnekleri ise akar suyun altında bir gün boyunca yıkandıktan sonra alkol ve ksilolle muamele edildi. Parafin emdirilip, yine parafinde bloklandı. Mikrotom ile 5-6 µm kalınlığında üçer adet kesit alındı. Birinci kesitlere Hematoxylin-Eosin (HE), ikinci kesitlere Brown-Brenn Gram ve üçüncü kesitlere ise MayGrunwald-Giemsa boyama yapıldı (Luna, 1968). Tüm preparatlar ışık mikroskopunda incelendi.

2.9. Elektron Mikroskopik İnceleme İçin Doku Kesitlerinin Hazırlanması

Akciğerlerden alınan 1 mm³ hacimli doku örneklerinin %2.5 glutaraldehid-%4 paraformaldehid solüsyonunda 24 saat süre ile ilk tespiti yapıldı (Karnovsky, M.J., 1965). Doku örnekleri 0.1 M kakodilat tamponunda her 15 dakikada bir değiştirmek suretiyle 3 saat süre ile yıkandı ve % 2'lik ozmik asit ile 2 saat süreyle tespit edildi.

Kakodilat tamponu ile iki kez 10'ar dakika yıkanan doku örnekleri %30, %50 ve %70'lik alkollerde 15'er dakikalık sürelerle ikişer kez tutulup %70'lik alkolde 1 gece buzdolabında bırakıldı. Doku örneklerine 2 saat süre ile buzdolabında uranil boyası yapıldı ve %90'lık alkol, absolu alkol ve propilen oksitte 2'şer kez 30'ar dakika tutuldu. Araldit-propilen oksit karışımında 1 gece süre ile buzdolabında saklanan doku örnekleri ertesi gün araldit karışımında 2 saat süre ile oda ısısında rotatorda döndürüldü ve araldit ile bloklama yapıldı. Bloklar 24 saat süre ile 45°C'lik etüvde, 24 saat süre ile de 60°C'lik etüvde tutuldu ve soğumaya bırakıldı. Bloklardan yarı ince kesitler alınıp, toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskopta incelendi. İstenilen bölgelerin ince kesitleri alınarak uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandı (Venable, J.H. ve Coggeshall, R.A., 1965) ve Zeiss-9S elektron mikroskobunda incelendi.



3. BULGULAR

3.1. Klinik Bulgular

Enfeksiyonu takip eden günlerde tavşanlar normal görünürken ölümlerinden 24 saat öncesinde iştahsızlık, durgunluk, tüylerde kabarma, bazılarında hafif solunum güçlüğü bulguları ve ileri dönemde ani ölümler görüldü. Ötanazi yapılan tavşanların hiçbirinde klinik bulgu saptanmadı.

Pasteurella multocida'nın intranazal olarak inoküle edildiği 12 tavşanın 5'i (%41) öldü. Bunların 1'i dördüncü günde, 2'si beşinci günde, 1'i altıncı günde ve 1'i de on dördüncü günde öldü. Diğerlerinin 4'üne onuncu günde ve 3'üne de on dördüncü günde ötanazi yapıldı. İki adet kontrol tavşana ise on dördüncü günde ötanazi uygulandı.

Pasteurella multocida'nın intratraheal olarak inoküle edildiği 12 tavşanın 10'u (%83) öldü. Bu gruptaki deneme tavşanlarından 1'i dördüncü günde, 1'i beşinci günde, 3'ü altıncı günde, 1'i sekizinci günde, 2'si dokuzuncu günde, 1'i on ikinci günde, 1'i on üçüncü günde ölürken, 1'ine onuncu günde ve 1'ine de ondördüncü günde ötanazi yapıldı. Kontrol tavşanlara ise on dördüncü günde ötanazi uygulandı.

Pasteurella multocida'nın intravenöz olarak inoküle edildiği 12 tavşanın 3'ü (%25) inokülasyon sonrası altıncı günde öldü. Bir tavşana altıncı günde, 4'üne onuncu günde ve 4'üne de on dördüncü günde ötanazi yapıldı. Kontrol grubundaki tavşanlara ise ondördüncü günde ötanazi uygulandı.

3.2. Mikrobiyolojik Bulgular

Denemelere başlamadan önce alınan burun svaplarının *Pasteurella multocida* yönünden mikrobiyolojik incelemesi negatifti.

Nekropsileri yapılan tavşanların iç organlarından yapılan mikrobiyolojik ekimler sonrasında intranazal inokülasyon yapılan tavşanların 8'inde, intratraheal inokülasyon yapılan tavşanların 10'unda ve intravenöz inokülasyon yapılan tavşanların ise 8'inde *Pasteurella multocida* izole edildiği Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından bildirildi (Tablo 3).

Tablo 3. Nekropsileri sonrasında tavşanların iç organlarından *Pasteurella multocida* izolasyon sonuçları.

İntranazal inokülasyon deneme grubu		İntratraheal inokülasyon deneme grubu		İntravenöz inokülasyon deneme grubu	
Tavşan No	İzolasyon sonucu	Tavşan No	İzolasyon sonucu	Tavşan No	İzolasyon sonucu
1	+	1	+	1	+
2	+	2	+	2	+
3	+	3	+	3	+
4	+	4	+	4	+
5	+	5	+	5	-
6	-	6	+	6	+
7	+	7	+	7	-
8	+	8	+	8	-
9	-	9	+	9	+
10	-	10	+	10	-
11	+	11	-	11	+
12	-	12	-	12	+
13 K	-	13 K	-	13 K	-
14 K	-	14 K	-	14 K	-

K : Kontrol, (+) : *Pasteurella multocida* pozitif, (-) : *Pasteurella multocida* negatif

Not: Tek bir organdan izole edilen *Pasteurella multocida* pozitif (üredi) kabul edilmiştir.

3.3. Makroskopik Bulgular

Tüm lezyonlar trahea, akciğer, plöra ve perikardda görüldü; karaciğer, dalak, böbrek, meninks ve pankreaslarda konjesyon dışında diğer organlarda belirgin bir lezyona rastlanmadı. Akciğerlerde makroskopik olarak konjesyon, ödem, kanama ve konsolidasyon belirlendi. Plöritis akciğeri kısmen ya da tamamen kaplayan açık sarı renkte bir eksudat ile karakterize idi. Perikarditiste benzeri eksudata perikardda rastlandı.

3.3.1. İntranazal İnokülasyon Deneme Grubu

Bu deneme grubundaki tavşanlardan 1'inde traheitis (% 8) ve 6'sında pnömoni (%50) gözlemlendi. İki tavşanda pnömoni ile birlikte plöritis (%17) de şekillenmişti. Plöritis bulgularına rastlanan bir tavşanda perikarditis (% 8) ve göğüs boşluğunun sağ bölümünde pyotoraks (% 8) dikkati çekti (Tablo 4).

İntranazal inokülasyon deneme grubundaki 4 no'lu tavşanın trahea mukozası hiperemik ve ödemli görünümdeydi; lumeninde sarı-kırmızı renkte köpüklü eksudat bulunmaktaydı.

İnokülasyonun dört ve altıncı gününde ölen 1 ve 4 no'lu ve onuncu günde ötanazi yapılan 8 no'lu üç adet tavşanda konsolidasyon alanları akciğerin kranial loblarına yerleşmişti (Şekil 1). Bir ve 4 no'lu tavşanlarda sağ ve sol her iki kranial lob etkilenirken, 8 no'lu tavşanda sağ kranial lobun pars kaudalis'i lezyonlu olup ayrıca sağ kaudal lobun ortasında çevresinden keskin sınırla ayrılan koyu kırmızı-kahve renkte konsolidasyon bölgesine rastlandı. Beşinci günde ölen 2 ve 3 no'lu tavşanlar ile onuncu günde ötanazi yapılan 7 no'lu tavşanda konsolidasyon alanları tüm akciğer loblarına dağılmıştı (Şekil 2). Bu akciğerler açık kahve-koyu kırmızı renkte alacalı görünümde ve şiddetli derecede konjesyonlu olup iyi kollabe

olmamışlardı. Bu akciğerlerin kesit yüzlerinden sarı-kırmızı renkte köpüklü bir eksudat sızmaaktaydı. Bronş lumenlerinde yoğun şekilde açık sarı-kırmızı renkte köpüklü eksudata rastlandı. Bir, 2, 3 ve 4 no'lu tavşanlarda tüm loblara dağılmış hafif şiddette fokal kanama alanları mevcuttu. Koyu kırmızı-siyah renkteki kanama

Tablo 4. İntranazal *Pasteurella multocida* inokülasyonu yapılan tavşanlarda makroskopik bulgular

Tavşan No	Inokülasyon sonrası	Akciğer lezyonları				Akciğerde konsolidasyon alanlarının dağılımı	Plöritis	Pyotoraks	Perikarditis
		Konjesyon	Ödem	Kanama	Konsolidasyon				
1	4. günde öldü	+	+	+	+	Sol Sağ 	-	-	-
2	5. günde öldü	+++	+++	+	++		-	-	-
3	5. günde öldü	++	+	+	++		+	-	-
4	6. günde öldü	+++	+++	+	++		-	-	-
5	10. günde ötanazi yapıldı	++	+	-	-		-	-	-
6	10. günde ötanazi yapıldı	+	-	-	-		-	-	-
7	10. günde ötanazi yapıldı	++	++	-	+		-	-	-
8	10. günde ötanazi yapıldı	+	+	-	+		-	-	-
9	14. günde ötanazi yapıldı	+	-	-	-		-	-	-
10	14. günde ötanazi yapıldı	+	-	-	-		-	-	-
11	14. günde öldü	++	+	-	-		++	++	++
12	14. günde ötanazi yapıldı	-	-	-	-		-	-	-
13 Kontrol	14. günde ötanazi yapıldı	-	-	-	-		-	-	-
14 Kontrol	14. günde ötanazi yapıldı	-	-	-	-		-	-	-

+ : Hafif şiddette

++ : Orta şiddette

+++ : Şiddetli

alanları tüm lobların yüzeylerinde ve kesit yüzlerinde görülüyordu. İnokülasyonun beşinci gününde ölen 3 no'lu tavşanın akciğer lobları arasında ve üzerinde geniş fibrin kitleleri bulunmaktaydı (Şekil 3). İnokülasyonun on dördüncü gününde ölen 11 no'lu tavşanda göğüs boşluğunun sol tarafının büyük bir kısmının açık sarı renkli, krema kıvamlı içerikle dolu olduğu görüldü. Bu tavşanın sağ akciğer loblarının konjesyonlu ve hiperemik olduğu, viseral ve diafragma üzerindeki parietal plöra üzerinde kalın bir tabaka halinde fibrin kitlelerinin bulunduğu dikkati çekti (Şekil 4-6). İnokülasyonun onuncu gününde ötanazi yapılan 5 ve 6 no'lu, on dördüncü günde ötanazi yapılan 9 ve 10 no'lu tavşanların akciğerlerinde hafif ya da orta derecede konjesyon ve 5 no'lu tavşanda hafif derecede ödem görüldü. On iki no'lu tavşanın akciğerinde hastalığa ilişkin hiçbir lezyona rastlanmadı. On dördüncü günde ötanazi yapılan 13 ve 14 no'lu kontrol tavşanların akciğerleri de normaldi.

On dördüncü günde ölen 11 no'lu tavşanda perikardın açık sarı renkli, krema kıvamlı kitle ile kısmen kaplı olduğu görüldü (Şekil 5 ve 6).

On ve 11 no'lu tavşanlar hariç bu gruptaki tüm tavşanların karaciğerleri; 1, 2, 3, 4, 7, 8 ve 12 no'lu tavşanların böbrekleri; 1, 2, 3, 4, 11 ve 12 no'lu tavşanların meninksleri; 1 ve 11 no'lu tavşanların pankreasları konjesyonlu görünümdeydi. Diğer organ ve dokularda herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Kontrol tavşanlarında da makroskobik bir değişikliğe rastlanmadı.

3.3.2. İntratraheal İnokülasyon Deneme Grubu

Bu gruptaki deneme tavşanlarının dokuzunda pnömoni (%75), 3'ünde plöritis (%25), 2'sinde göğüs boşluğunun sol bölümünde pyotoraks (%17) ve 2'sinde de perikarditis (%17) görüldü. Dokuzuncu günde ölen 1 tavşanda pyotoraks, plöritis ve perikarditis birlikte görüldü (Tablo 5).

İnokülasyon sonrası dördüncü ve dokuzuncu günler arasında ölen sekiz (no: 1-8) ve onuncu günde ötanazi yapılan bir (no: 9) tavşanda konsolidasyon alanları akciğerin tamamını kaplamıştı. On ikinci günde ölen 10 no'lu, on üçüncü günde ölen 11 no'lu ve on dördüncü günde ötanazi yapılan 12 no'lu tavşanların akciğerlerinde ise konsolidasyon alanlarına rastlanmadı. Bir no'lu tavşanda, akciğerde konjesyon ve ödem çok belirgindi. Diğer hayvanlarda bu değişiklikler hafiften orta şiddete kadar değişmekteydi. Göğüs boşluğu açıldığında akciğerlerin iyi kollabe olmadıkları görüldü. Lezyonlu akciğerler alacalı görünümde olup renkleri açık ya da koyu kırmızı ve açık kahverengi arasında değişmekteydi. Akciğer lezyonlarının orta şiddette ve şiddetli olduğu tavşanların traheaları kanlı ve köpüklü eksudatla doluydu. Akciğerlerinin kesit yüzleri nemli olup sarı-kırmızı renkte köpüklü bir eksudat sızılmaktaydı. Bronş lumenlerinde yoğun şekilde açık sarı-kırmızı renkte köpüklü eksudata rastlandı. Üç ve 10 no'lu tavşanlarda orta şiddette ve 1, 6 ve 9 no'lu tavşanlarda ise hafif şiddette olmak üzere akciğerlerde koyu kırmızı-siyah renkte, tüm loblara dağılmış fokal kanama alanları görüldü. Deneme grubundaki 1, 7 ve 8 no'lu tavşanların akciğerlerinin visceral plörası üzerinde ve lobları arasında açık sarı renkte fibrin kitleleri bulunmaktaydı (Şekil 7 ve 8). Göğüs duvarı ve diafragma üzerini kaplayan plörasının üzerinde de ince bir katman halinde açık sarı renkli fibrin tabakasına rastlandı. Bu tavşanların akciğerlerinin kranial lobları koyu kırmızı-kahve renkte, kaudal lobları ise açık kırmızı renkteydi. Göğüs boşluklarında az miktarda sero-fibrinli eksudat bulunmaktaydı. Sekiz ve 10 no'lu tavşanların göğüs boşlukları açıldığında sol bölümün açık sarı renkte ve koyu krema kıvamında fibrinopurulent kitle ile tamamen dolu olduğu görüldü (Şekil 9-11). On bir ve 12 no'lu tavşanların akciğerleri hafif derecede konjesyone ve ödemliydi. On dördüncü günde ötanazi yapılan 13 ve 14 no'lu kontrol tavşanların akciğerleri normaldi.

Bu deneme grubundaki 1 ve 8 no'lu tavşanların kalp kesesi üzerinde açık sarı renkli fibrinopurulent kitleler bulunmaktaydı. Fibrinopurulent kitleler 1 no'lu tavşanın kalp kesesi üzerinde daha küçük bir alanı kaplarken, 8 no'lu tavşanda kalbin büyük bir kısmını örtmekteydi (Şekil 12).

Bu gruptaki tüm tavşanların karaciğer ve meninksları, 3 ve 11 no'lu tavşanların dalakları, 4, 5, 6, 7, 8, 11 ve 12 no'lu tavşanların böbrekleri ile 5 ve 8 no'lu tavşanların lenf düğümleri konjesyonluydu. Diğer organlarda herhangi bir değişiklik dikkati çekmedi. Kontrol tavşanlarında makroskopik bir değişiklik gözlenmedi.

Tablo 5. İntratraheal *Pasteurella multocida* inokülasyonu yapılan tavşanlarda makroskopik bulgular

Tavşan No	Inokülasyon sonrası	Akciğer lezyonları				Akciğerde konsolidasyon alanlarının dağılımı	Plörizis	Pyotoraks	Perikarditis
		Konjesyon	Ödem	Kanama	Konsolidasyon				
1	4. günde öldü	+++	+++	+	++	Sol  Sağ	++	-	++
2	5. günde öldü	++	++	-	++		-	-	-
3	6. günde öldü	++	++	++	++		-	-	-
4	6. günde öldü	++	++	-	++		-	-	-
5	6. günde öldü	+	++	-	+		-	-	-
6	8. günde öldü	++	++	+	++		-	-	-
7	9. günde öldü	+	+	-	++		+++	-	-
8	9. günde öldü	++	+	-	+		+++	+++	+++
9	10. günde ötanazi yapıldı	++	++	+	+++		-	-	-
10	12. günde öldü	++	+	++	-		-	+++	-
11	13. günde öldü	+	+	-	-		-	-	-
12	14. günde ötanazi yapıldı	+	+	-	-		-	-	-
13 Kontrol	14. günde ötanazi yapıldı	-	-	-	-		-	-	-
14 Kontrol	14. günde ötanazi yapıldı	-	-	-	-		-	-	-

+: Hafif şiddette

++: Orta şiddette

+++ : Şiddetli

3.3.3. İntravenöz İnokülasyon Deneme Grubu

Bu gruptaki 12 deneme hayvanının sadece 2'sinin (%17) akciğerlerinde pnömoni lezyonlarına rastlandı.

İntravenöz inokülasyon deneme grubundaki 2 no'lu tavşanın trahea mukozası hiperemik ve şişkin görünümdeydi.

Altıncı günde ölen 2 ve 4 no'lu iki tavşanın akciğerlerinde makroskopik değişikliklere rastlandı. Bunlardan sadece 4 no'lu tavşanda lezyonlar tüm akciğer loblarına yayılmış iken, 2 no'lu tavşanda kranial loblarla sınırlıydı (Şekil 13). İki no'lu tavşanda değişikliklerin olduğu bölgeler koyu kırmızı-açık kahve renkte olup normal komşu dokulardan belirgin şekilde ayrılmıştı. Lezyonlu bölgeler karaciğer kıvamında ve hafif nemli görünümdeydi. Dört no'lu tavşanın akciğerleri orta derecede şişkin, iyi kollabe olmamış durumda ve koyu kırmızı-kahve renkte alacalı bir görünümdeydi. İki ve 4 no'lu tavşanların akciğerlerinin kesit yüzleri nemli görünümde olup sarı-kırmızı renkte köpüklü bir eksudat sızılmaktaydı. Dört no'lu tavşanın akciğerinde koyu kırmızı-siyah renkte fokal kanama alanlarına rastlandı. Bir, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 11 ve 12 no'lu tavşanlarda hafiften şiddetliye değişen derecede konjesyon ile 2, 4, 6 ve 9 no'lu tavşanlarda hafiften ortaya değişen şiddette ödem dışında hiçbir değişiklik dikkati çekmedi. Beş, 7 ve 10 no'lu tavşanlar ile kontrol tavşanlarda hiçbir patolojik değişiklik yoktu.

Bu deneme grubundaki 5, 7, 8 ve 10 no'lu tavşanlar hariç diğer tavşanların karaciğer ve böbreklerinde; 1, 3, 6, 9, 11 ve 12 no'lu tavşanların dalaklarında; 1, 4, 11 ve 12 no'lu tavşanların meninkslerinde konjesyon görüldü. Diğer organlarda dikkat çekici bir bulguya rastlanmadı. Kontrol tavşanları makroskopik olarak tümüyle normaldi.

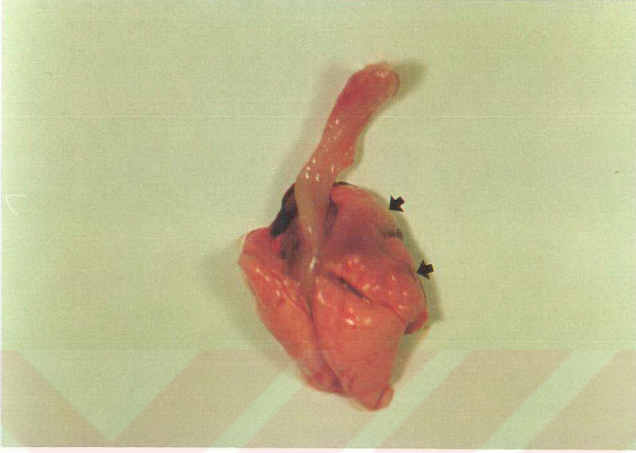
Tablo 6. İntravenöz *Pasteurella multocida* inokülasyonu yapılan tavşanlarda makroskopik bulgular

Tavşan No	Inokülasyon sonrası	Akciğer lezyonları				Akciğerde konsolidasyon alanlarının dağılımı	Pnöritis	Pyotoraks	Perikarditis
		Konjesyon	Ödem	Kanama	Konsolidasyon				
1	6. günde öldü	++	-	-	-	Sol Sağ 	-	-	-
2	6. günde öldü	+	+	-	+		-	-	-
3	6. günde ötanazi yapıldı	++	-	-	-		-	-	-
4	6. günde öldü	+++	++	++	++		-	-	-
5	10. günde ötanazi yapıldı	-	-	-	-		-	-	-
6	10. günde ötanazi yapıldı	++	++	-	-		-	-	-
7	10. günde ötanazi yapıldı	-	-	-	-		-	-	-
8	10. günde ötanazi yapıldı	+	-	-	-		-	-	-
9	14. günde ötanazi yapıldı	+	+	-	-		-	-	-
10	14. günde ötanazi yapıldı	-	-	-	-		-	-	-
11	14. günde ötanazi yapıldı	+	-	-	-		-	-	-
12	14. günde ötanazi yapıldı	+	-	-	-		-	-	-
13 Kontrol	14. günde ötanazi yapıldı	-	-	-	-		-	-	-
14 Kontrol	14. günde ötanazi yapıldı	-	-	-	-		-	-	-

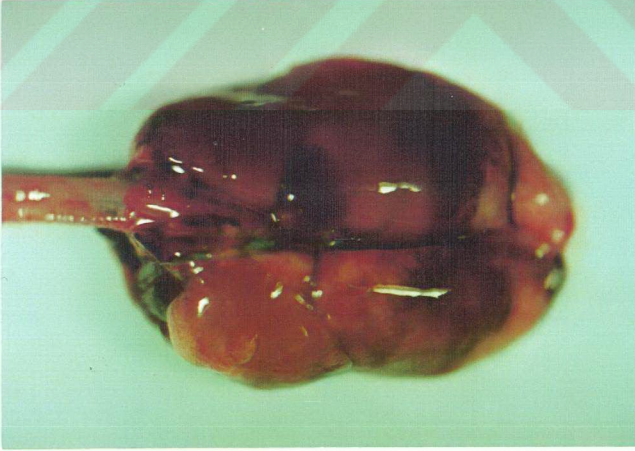
+ : Hafif şiddette

++ : Orta şiddette

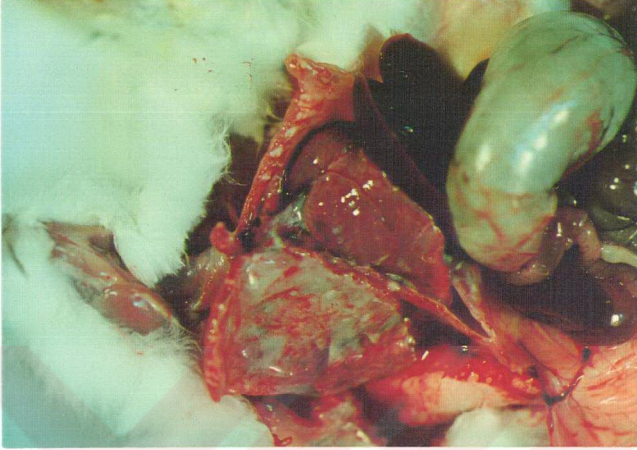
+++ : Şiddetli



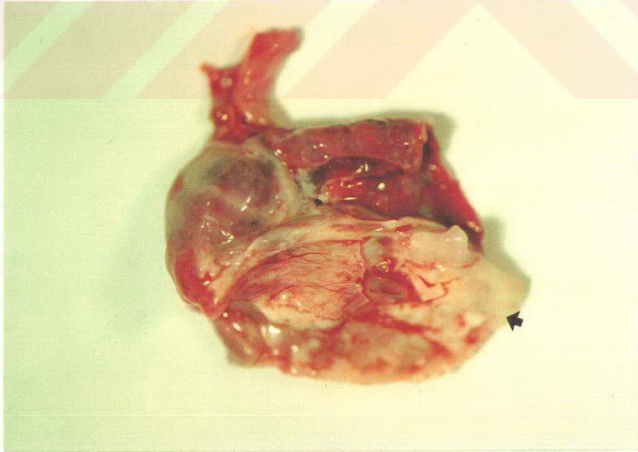
Şekil 1. İntranazal inokülasyon sonrası 4. günde ölen tavşan (No. 1). Akciğerin kranial loblarında konsolidasyon alanları (oklar).



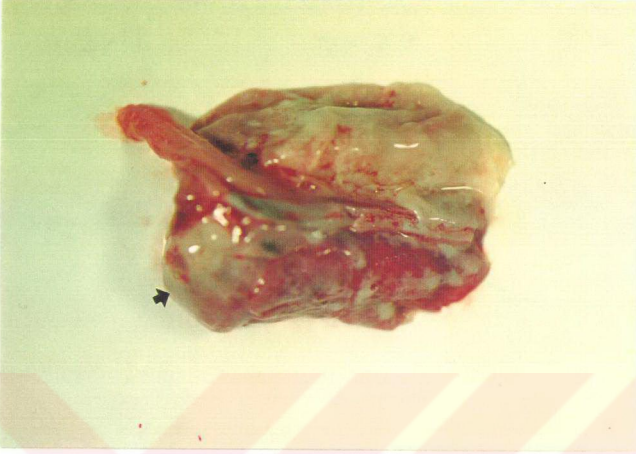
Şekil 2. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 2). Akciğerin tüm loblarında şiddetli ödem ve konjesyon ile kanama ve konsolidasyon alanları.



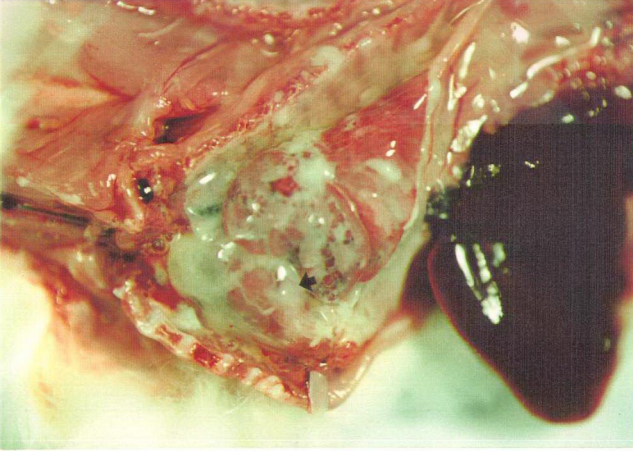
Şekil 3. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 3). Plörada ve akciğer lobları arasında açık sarı renkte fibrin kütleleri.



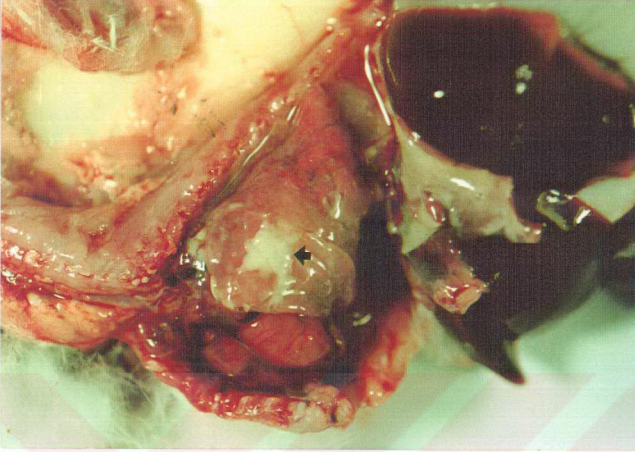
Şekil 4. İntranazal inokülasyon sonrası 14. günde ölen tavşan (No. 11). Kalp kesesinde orta derecede fibrinopurulent perikarditis ve diafragmanın plöral yüzünde fibrinopurulent plöritis (ok).



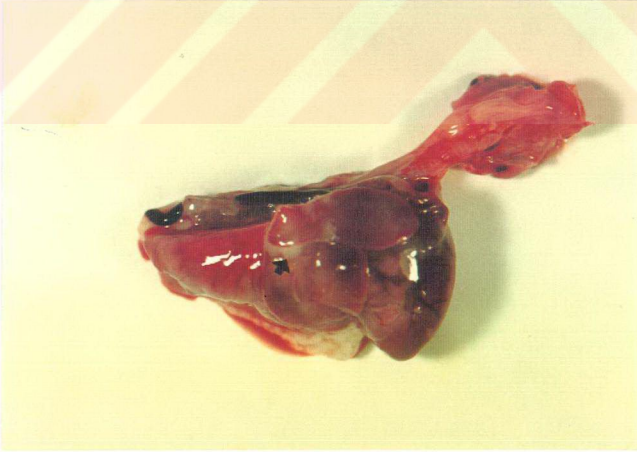
Şekil 5. İntranazal inokülasyon sonrası 14. günde ölen tavşan (No. 11). Akciğerin sağ loblarında kalın, sol loblarında ise ince bir tabaka şeklinde görülen fibrinopurulent plöritis ve kalp kesesinde orta derecede fibrinopurulent perikarditis (ok).



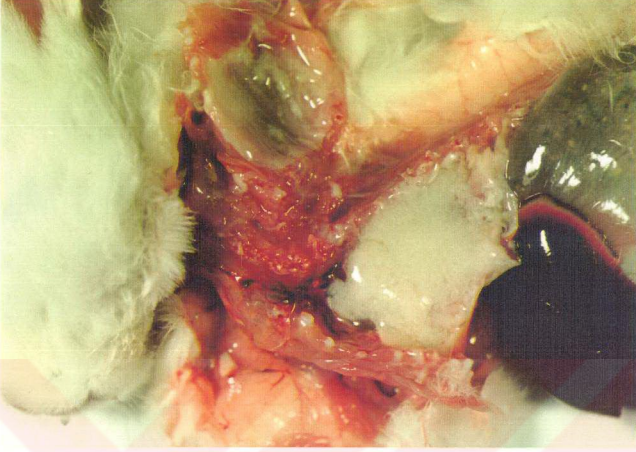
Şekil 6. İntranazal inokülasyon sonrası 14. günde ölen tavşan (No. 11). Göğüs boşluğu fibrinopurulent bir içerikle dolu. Akciğerde hafif konjesyon ve amfizem alanları. Fibrinopurulent plöritis ve perikarditis (ok).



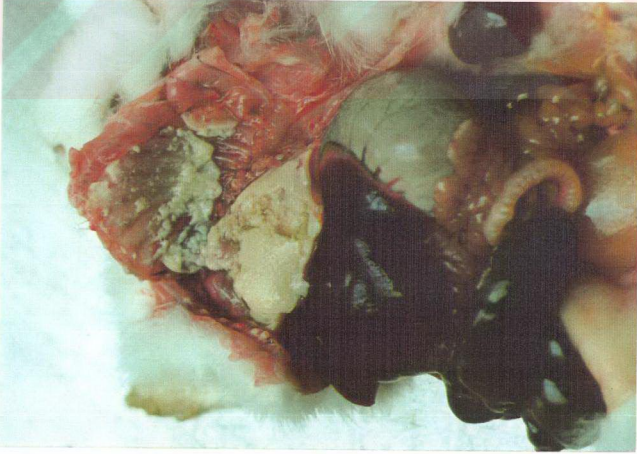
Şekil 7. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. günde ölen tavşan (No. 7). Göğüs boşluğunda serofibrinli içerik. Akciğerin kranial lobları arasında açık sarı renkte kalın fibrinopurulent kitleler (ok) ve diafragmanın plöral yüzünü kaplayan ince fibrinopurulent tabaka.



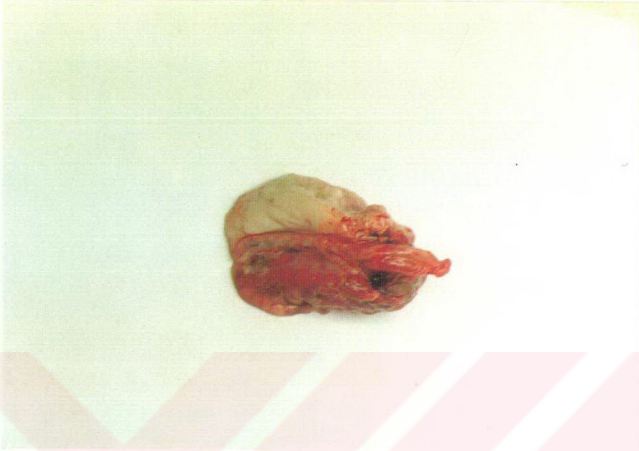
Şekil 8. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. günde ölen tavşan (No. 7). Akciğerin kranial lobları arasında açık sarı renkte az miktarda fibrinopurulent kitle (ok) ve kranial loblarda konsolidasyon alanları.



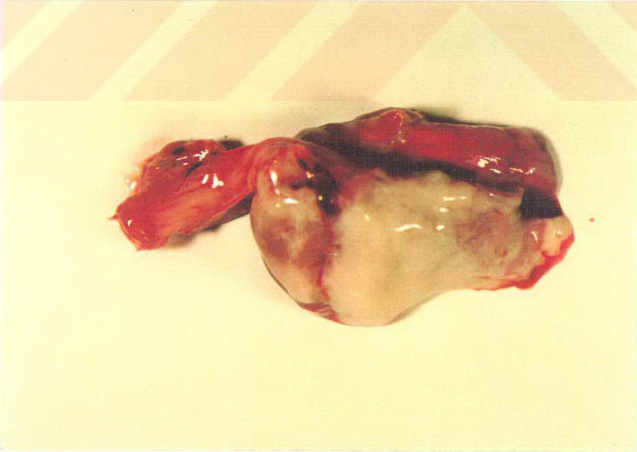
Şekil 9. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. günde ölen tavşan (No. 8). Göğüs boşluğunun sol bölümünde şiddetli pyotoraks.



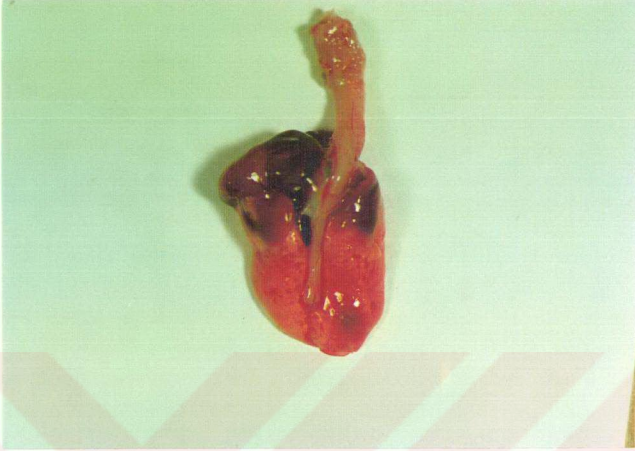
Şekil 10. İntratraheal inokülasyon sonrası 12. günde ölen tavşan (No. 10). Göğüs boşluğunun sol bölümünde şiddetli pyotoraks.



Şekil 11. İntratraheal inokülasyon sonrası 12. günde ölen tavşan (No. 10) Akciğerin sol loblarını kalın bir tabaka halinde örten açık sarı renkte fibrinopurulent kitle.



Şekil 12. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. günde ölen tavşan (No. 8). Açık sarı renkli fibrinopurulent kitle akciğerin sol tarafını tümüyle, kalbin ise büyük bir kısmını kaplamış durumda.



Şekil 13. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 2). Akciğerin kranial loblarında konsolidasyon alanları.

3.4. Mikroskopik Bulgular

3.4.1. İntranazal İnokülasyon Deneme Grubu

Dört no'lu tavşanda traheanın lamina propria'sında hiperemi ve ödem ile nötrofil granülosit ve mononükleer hücrelerden oluşan hücresel infiltrasyonun yer aldığı traheitis tablosuna rastlandı.

İntranazal inokülasyon sonrası dördüncü ve altıncı günler arasında ölen 1, 2, 3 ve 4 no'lu tavşanların akciğerleri incelendiğinde, alveol lumenlerinde çoğunluğunu nötrofil granülositlerin oluşturduğu ve daha az olarak da makrofajların yer aldığı yangısal hücrelere ve fibrin kitlelerine rastlandı (Şekil 14). Bronşiol epitellerinin yer yer ya da tümüyle nekroza uğradığı görüldü (Şekil 15). Bronş ve bronşiol lumenleri

normal ve dejenere nötrofil granüositler ve dökülmüş epitel hücreleriyle dolu durumdaydı. İki ve 3 no'lu tavşanlarda birkaç alanda, 4 no'lu tavşanda ise çok sayıda fokal parenkim nekrozu şekillenmişti (Şekil 16). Tavşanların tümünde hafif ve orta şiddette, geniş amfizem ve atelektazi alanlarına rastlandı. Ayrıca, tüm damarların orta ya da şiddetli derecede hiperemik olduğu, interalveoler dokuların genişlediği ve pnömoni alanlarının çevresindeki alveollerde pembe renkte ödem sıvısının bulunduğu dikkati çekti.

İnokülasyon sonrası onuncu günde nekropsileri yapılan 7 ve 8 no'lu tavşanların akciğerlerinde, alveol lumenlerinde yoğun şekilde nötrofil granüositlere rastlandı. Yedi no'lu tavşanda bronş ve bronşiol lumenleri dejenere nötrofil granüositler ve dökülmüş epitel hücreleri kapsamaktaydı. Bronşiol epitelleri yer yer nekrotik durumdaydı. Ayrıca, yer yer nekroz ve kanama alanları da dikkati çekti. Beş no'lu tavşanda akciğerde konjesyon ve ödem ile hafif şiddette atelektazi ve amfizem alanlarına rastlanırken, 6 no'lu tavşanda sadece hafif konjesyon ve bazı alveol lumenlerinde birkaç adet makrofajın bulunması dışında değişiklik gözlenmedi.

İnokülasyon sonrası on dördüncü günde nekropsisi yapılan 11 no'lu tavşanın akciğerinde ödem görüldü. Konjesyon 11 no'lu tavşanda orta şiddette, 9 ve 10 no'lu tavşanlarda ise hafif şiddetteydi. Akciğerlerde hafif derecede amfizematik ve atelektazik değişikliklere rastlandı. Dokuz ve 10 no'lu tavşanlarda interalveolar kapillar lumenlerinde nötrofil granüosit yığınları dikkati çekti.

İntranazal inokülasyon deneme grubundaki tavşanların akciğerlerindeki lezyonlar yayılım özelliğine göre değerlendirildiğinde, 1, 4 ve 8 no'lu tavşanlarda bronkopnömoninin ve 2, 3 ve 7 no'lu tavşanlarda ise lobar pnömoninin geliştiği görülmüştür; yangı tipi göz önüne alınarak yapılan değerlendirmede bunların fibrinopurulent ve nekrotik pnömoni oldukları saptanmıştır.

Brown-Brenn Gram boyamada *Pasteurella multocida*'lar kokobasil şeklinde ve açık pembe renkte görüldü. MayGrunwald-Giemsa boyamada ise bakterilerin mavi-mor renkte boyandıkları saptandı. Her iki boyamada, *Pasteurella multocida*'lar

interalveolar kapillar lumenlerindeki nötrofil granülositlerin sitoplazmalarında, alveol lumenlerindeki nötrofil granülositlerin ve makrofajların sitoplazmalarında ve plöritisli tavşanların plörası üzerindeki eksudatta yer alan nötrofil granülositlerin sitoplazmalarında fagosite edilmiş halde gözlendi (Şekil 17).

Üç no'lu tavşanda lobar pnömoni yanında, plörada da kalın bir kitle halinde normal ve dejenere nötrofil granülositlerin ve pembe renkli fibrin kitlelerinin oluşturduğu fibrinopurulent plöritisle karşılaşıldı. Subplöral bölgede, alveol lumenlerinde fibrin kitleleri ve ödem sıvısı mevcuttu. On bir no'lu tavşanda ise alveol lumenlerinde yangısal hücre infiltrasyonu ve eksudat görülmezken, plöranın 3 no'lu tavşandaki gibi kalın fibrinopurulent bir eksudatla kaplı olduğu görüldü (Şekil 18). Perikardda dejenere ve normal nötrofil granülositler ile birlikte fibrin kitleleri yer almaktaydı. Fibrinopurulent perikarditisli bölgelerde, perikarda yakın kas demetleri arasında damarlarda hiperemi, fibrin kitleleri ve yoğun nötrofil granülosit infiltrasyonu gözlendi (Şekil 19).

On ve 11 no'lu tavşanlar hariç bu gruptaki tüm tavşanların karaciğerleri; 1, 2, 3, 4, 7, 8 ve 12 no'lu tavşanların böbrekleri; 1, 2, 3, 4, 11 ve 12 no'lu tavşanların meninksleri; 1 ve 11 no'lu tavşanların pankreasları konjesyonlu görünümdeydi. İncelenen diğer organlarda önemli bir değişikliğe rastlanmadı.

On dördüncü günde nekropsileri yapılan 13 ve 14 no'lu iki adet kontrol tavşanda herhangi bir patolojik değişiklik saptanmadı.

3.4.2. İntratraheal İnokülasyon Deneme Grubu

İnokülasyon sonrası dördüncü ve altıncı günler arasında ölen beş tavşanın (no: 1-5) akciğerlerinin mikroskopik incelemesinde, alveol lumenlerinde yoğun şekilde nötrofil granülositlere, az sayıda makrofaja ve yer yer fibrin kitlelerine rastlandı

(Şekil 20 ve 21). Bronş ve bronşiol lumenlerinde dejenere nötrofil granülositler ve dökülmüş epitel hücreleri dikkati çekti. Bronşiol epitel hücrelerinin kısmen ya da tümüyle nekroze uğradığı görüldü (Şekil 22 ve 23). Üç ve 4 no'lu tavşanlarda yaygın şekilde fokal nekrozlar şekillenmişti. Bir ve 3 no'lu tavşanlarda kanama alanları gözlemlendi. Tavşanların tümünde ödemli alveoller ve eksudatla tıkalı bronşioler çevresinde yaygın amfizem ve atelektazi bölgeleri yer almaktaydı. Ayrıca, tüm damarlarda hiperemi, interalveoler dokularda genişleme ve pnömoni alanlarının çevresindeki alveollerde pembe renkte ödem sıvısının varlığı dikkati çeken diğer bulguları.

İnokülasyon sonrası sekizinci ve onuncu günler arasında ölen (no: 6-8) ya da ötanazi uygulanan (no: 9) tavşanlarda da akciğerde alveol lumenlerinin büyük çoğunluğunu nötrofil granülositlerin oluşturduğu hücrelerle dolu olduğu görüldü. Alveol lumenlerinde az sayıda makrofaj yanında fibrin kitlelerine de rastlandı. Altı ve 8 no'lu tavşanlarda bazı bronş ve bronşiol lumenleri dejenere nötrofil granülositlerle ve dökülmüş epitel hücreleriyle doluydu. Dokuz no'lu tavşanda bronşiol epitel hücrelerinin nekroza uğradığı görüldü. Akciğerde nekrotik odaklara yalnızca 9 no'lu tavşanda rastlandı (Şekil 24). Beş ve 6 no'lu tavşanların alveol lumenlerinde çok çekirdekli dev hücre oluşumları gözlemlendi (Şekil 25). Tüm tavşanlarda damarlarda hiperemi ve yer yer alveol lumenlerinde ödem sıvısının varlığı gözlenen diğer değişikliklerdi.

İnokülasyon sonrası on ikinci ve on üçüncü günlerde ölen 10 ve 11 no'lu tavşanlar ile on dördüncü günü ötanazi uygulanan 12 no'lu tavşanda akciğerde genellikle hafif konjesyon ve ödem gözlemlendi. Alveol lumenlerinde yer yer az sayıda makrofaja rastlandı. On no'lu tavşanda bazı bölgelerde kanama ve atelektazi alanları dikkati çekti.

Intratraheal inokülasyon deneme grubundaki tavşanların akciğerlerindeki lezyonlar yayılım özelliğine göre değerlendirildiğinde 9 tavşanda (no: 1-9) lobar pnömoninin geliştiği görülmüştür; yangı tipi göz önüne alınarak yapılan

değerlendirmede bunların fibrinopurulent ve nekrotik pnömoni oldukları saptanmıştır.

Brown-Brenn Gram ve MayGrunwald-Giemsa boyamalarda etkenler interalveoler kapillar lumenlerindeki nötrofil granüositlerin sitoplazmalarında, alveol lumenlerindeki nötrofil granüositlerin ve makrofajların sitoplazmalarında (Şekil 26) ve plöritisli tavşanların plörası üzerindeki eksudatta yer alan nötrofil granüositlerin sitoplazmalarında fagosit edilmiş halde gözlendi.

Bir, 7 ve 8 no'lu tavşanlarda lobar pnömoni yanında, plöralarının üzerinde yaygın şekilde fibrin kitlelerine ve nötrofil granüositlere rastlandı (Şekil 27). Plöraya yakın kısımlardaki akciğer parenkiminde damarların şiddetli hiperemik olduğu görüldü. Pyotoraksın şekillendiği 10 no'lu tavşanda akciğerin plöral yüzeyi ile diafragma arası fibrinopurulent eksudatla dolu durumdaydı (Şekil 28). Bir ve 8 no'lu tavşanların perikardları üzerinde de benzeri fibrinohücrel reaksiyon dikkati çekti (Şekil 29).

Bu gruptaki tüm tavşanların karaciğer ve meninksleri, 3 ve 11 no'lu tavşanların dalakları, 4, 5, 6, 7, 8, 11 ve 12 no'lu tavşanların böbrekleri ile 5 ve 8 no'lu tavşanların lenf düğümleri konjesyonluydu. İncelenen diğer organlarda önemli bir değişikliğe rastlanmadı.

On dördüncü günde nekropsileri yapılan iki adet kontrol tavşanında da önemli bir mikroskobik değişikliğe rastlanmadı.

3.4.3. İntravenöz İnokülasyon Deneme Grubu

İki no'lu tavşanda traheanın lamina propria'sında hiperemi ve ödem ile nötrofil granüosit ve mononükleer hücrelerden oluşan hücrel infiltrasyonun şekillendiği traheitis tablosuna rastlandı (Şekil 30).

İntravenöz inokülasyon sonrası altıncı günde ölen 2 ve 4 no'lu tavşanların akciğerlerinin mikroskopik incelemesinde, alveollerin büyük bölümünü nötrofillerin oluşturduğu ve az sayıda makrofaj ile yer yer fibrin kitlelerinin de bulunduğu eksudatla dolu oldukları görüldü. Benzeri hücre eksudasyonlarına bronş ve bronşiol lumenlerinde de rastlandı (Şekil 31). Bazı bronşiollerde epitel hücrelerinin kısmen ya da tümüyle nekroza uğradığı gözlemlendi. Alveol lumenlerinde yer yer ödem sıvısı görüldü. Ayrıca, fokal kanamalar ve nekrozlar da şekillenmişti. Bir, 2 ve 3 no'lu tavşanlarda interalveoler septal kapillarlarda konjesyon ve çok sayıda nötrofil granülositin varlığı dikkati çekti.

İnokülasyon sonrası onuncu günde ötanazi uygulanan 6 no'lu tavşanın akciğerinde, interalveoler septal kapillarlarda eritrositlerle tıka basa dolu olduğu ve yer yer alveol lumenlerinin ödem sıvısı içerdiği saptandı. Beş, 6 ve 7 no'lu tavşanlarda alveoller arasındaki septumda yer alan kapillarlarda çok sayıda nötrofil granülositin varlığı dikkati çekti.

İnokülasyon sonrası on dördüncü günde ötanazi uygulanan tavşanların dördünde (No. 8, 9, 11 ve 12) interalveoler septal kapillarlarda hiperemi ve birinde (No. 9) alveol lumenlerinde ödem sıvısı gözlemlendi. Sekiz ve 9 no'lu tavşanlarda çok belirgin, 11 ve 12 no'lu tavşanlarda daha hafif olarak interalveoler kapillar lumenlerinde çok sayıda nötrofil granülosit kümeleşmesine rastlandı (Şekil 32).

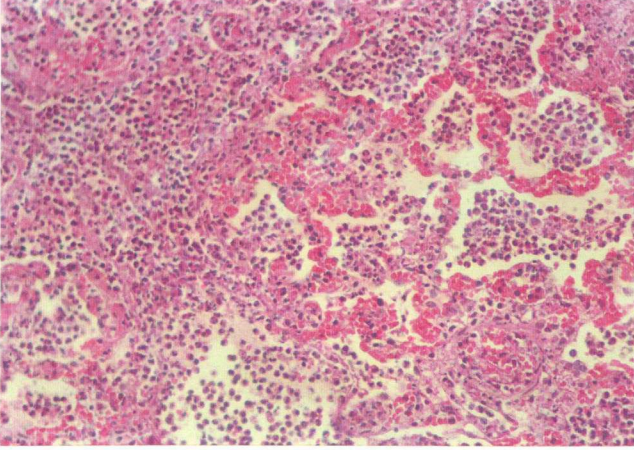
İntravenöz inokülasyon deneme grubundaki tavşanların akciğerlerindeki lezyonlar yayılım özelliğine göre değerlendirildiğinde, 2 no'lu tavşanda bronkopnömoninin ve 4 no'lu tavşanda ise lobar pnömoninin geliştiği görülmüştür; yangı tipi göz önüne alınarak yapılan değerlendirmede bunların fibrinopurulent ve nekrotik pnömoni oldukları saptanmıştır.

Bu deneme grubundaki tavşanların çeşitli organ kesitlerinde uygulanan Brown-Brenn Gram ve MayGrunwald-Giemsa boyamalarda etkenlere yaygın şekilde rastlanmıştır. *Pasteurella multocida*'lar akciğerde nötrofil granülositlerde (Şekil 33),

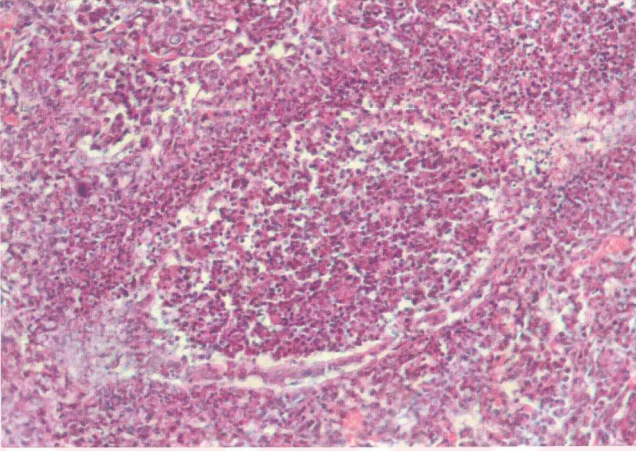
karaciğerde hepatositlerde ve Kupffer hücrelerinde (Şekil 34), dalakta retiküler hücrelerde (Şekil 35) ve böbrekte kapillar lumenlerindeki nötrofil granülositlerde (Şekil 36) saptandı.

Bu deneme grubundaki 5, 7, 8 ve 10 no'lu tavşanlar hariç diğer tavşanların karaciğer ve böbreklerinde; 1, 3, 6, 9, 11 ve 12 no'lu tavşanların dalaklarında; 1, 4, 11 ve 12 no'lu tavşanların meninkslerinde konjesyon görüldü. İncelenen diğer organlarda önemli bir değişikliğe rastlanmadı.

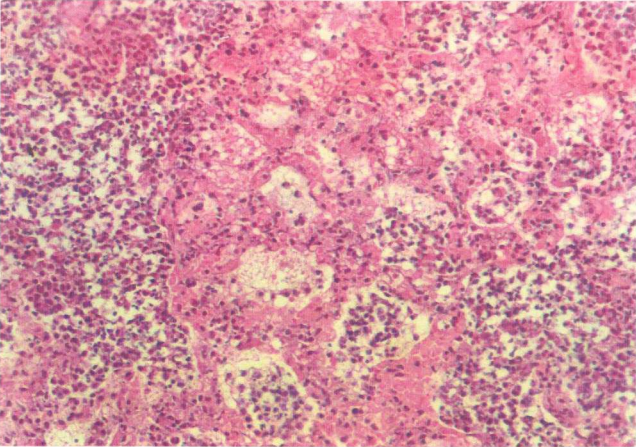
On dördüncü günde nekropsileri yapılan 13 ve 14 no'lu iki adet kontrol tavşanda herhangi bir patolojik bulgu dikkati çekmedi.



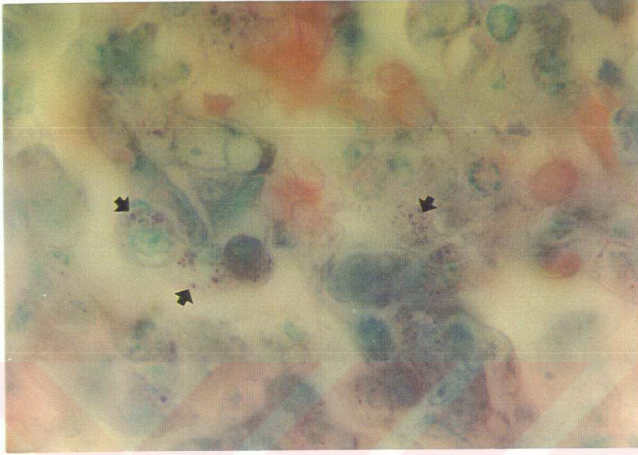
Şekil 14. İntranazal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 4). İnteralveoler kapillarlar genişlemiş ve eritrositlerle dolu. Alveol lumenlerinde yoğun nötrofil granülosit ve makrofaj birikimi. HE, x320.



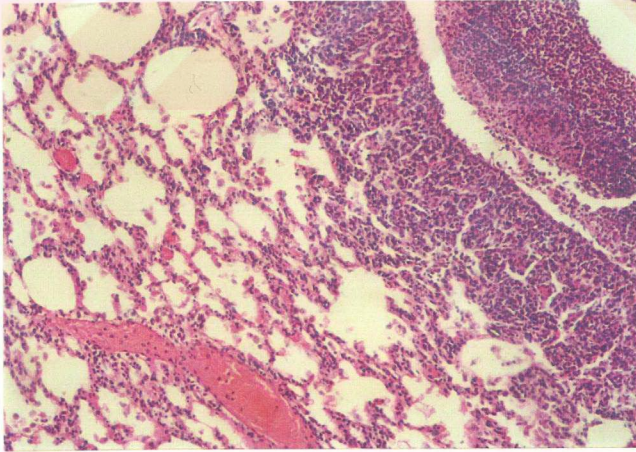
Şekil 15. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 2). Nekrotik bronşiolitis. Bronşiol lumeni dökülmüş epitel hücreleri ve nötrofil granülositlerle dolu durumda. HE, x320.



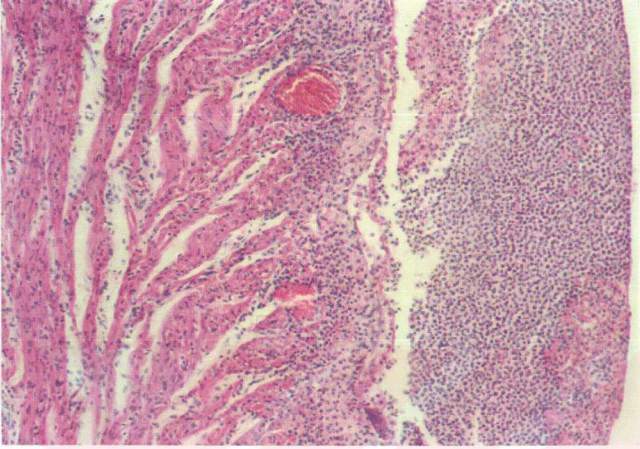
Şekil 16. İntranazal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 4). Akciğerde fibrinopurulent ve nekrotik bronkopnömoni. HE, x320.



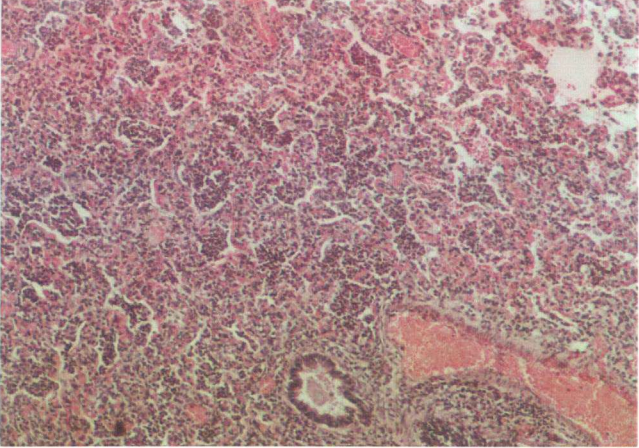
Şekil 17. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 3). Akciğerde interalveoler kapillar lumenlerindeki nötrofil granülositlerin sitoplazmalarında *Pasteurella multocida*'lar (oklar). MayGrunwald-Giemsa, x1400.



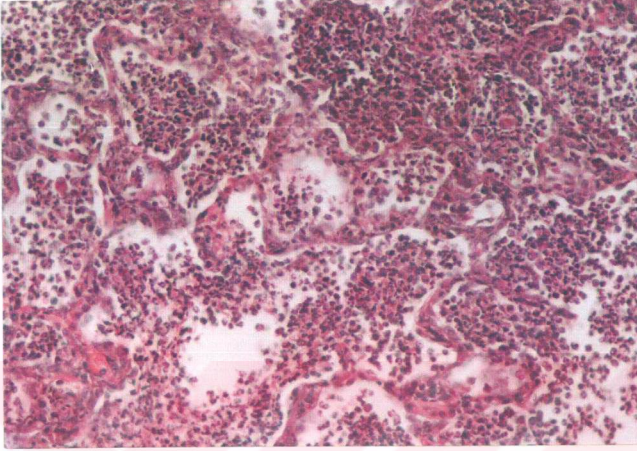
Şekil 18. İntranazal inokülasyon sonrası 14. günde ölen tavşan (No. 11). Fibrinopurulent plöritis. HE, x160.



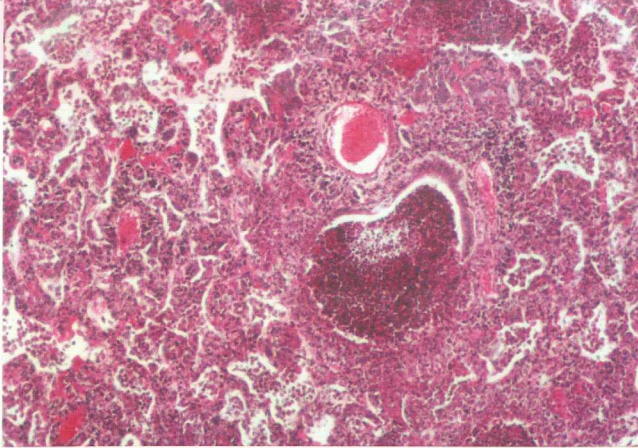
Şekil 19. İntranazal inokülasyon sonrası 14. günde ölen tavşan (No. 11). Fibrinopurulent perikarditis. Epikard ve myokardda yoğun nötrofil granülosit infiltrasyonu ve fibrin kitleleri. HE, x160.



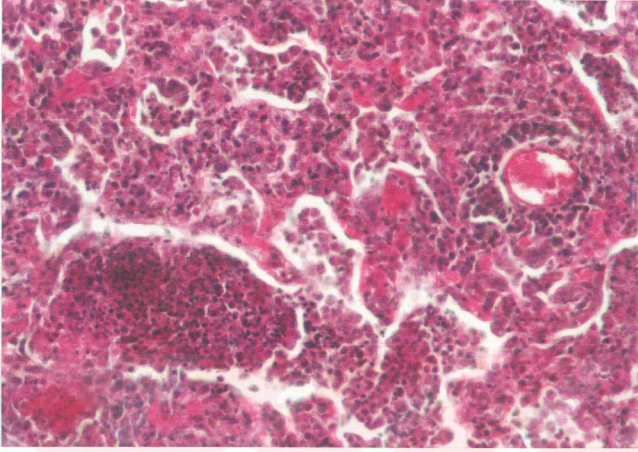
Şekil 20. İntratraheal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 3). Fibrinopurulent bronkopnömoni. HE, x160.



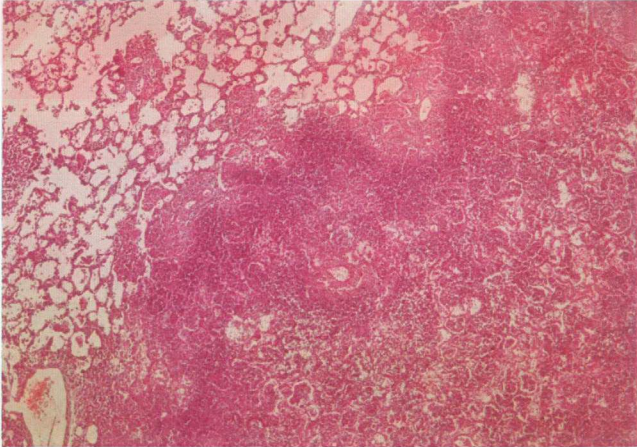
Şekil 21. İntratraheal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 3). Alveol lumenleri yoğun şekilde nötrofil granülositler ve makrofajlarla dolu. HE, x320.



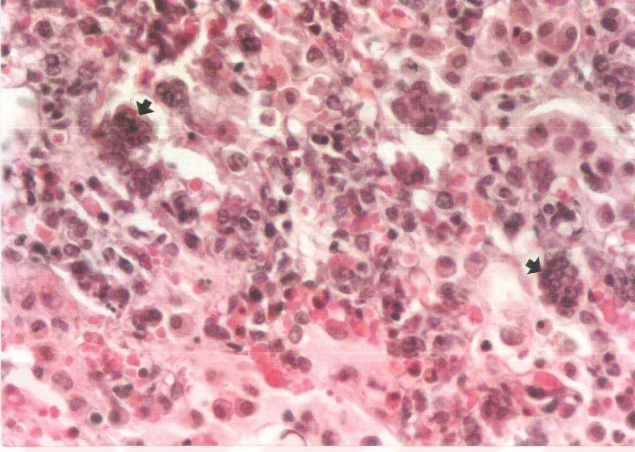
Şekil 22. İntratraheal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 4). Nekrotik bronşiolitis ile çevre alveol lumenlerinde nötrofil granülosit ve makrofajlar. HE, x160.



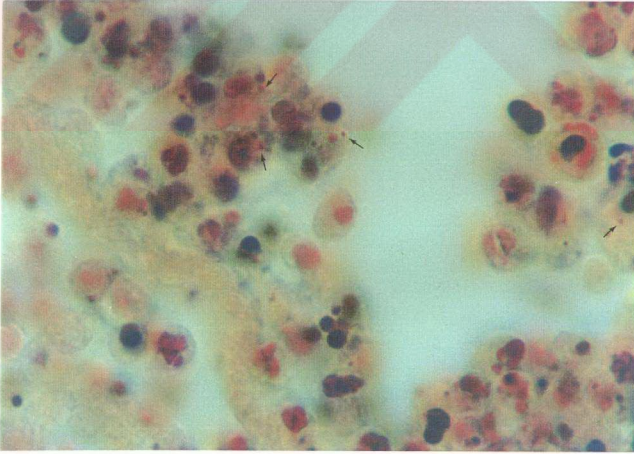
Şekil 23. İntratraheal inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 4). Şiddetli nekrotik bronşiolitis ile alveol lumenlerinde nötrofil granülosit ve makrofajlar. HE, x320



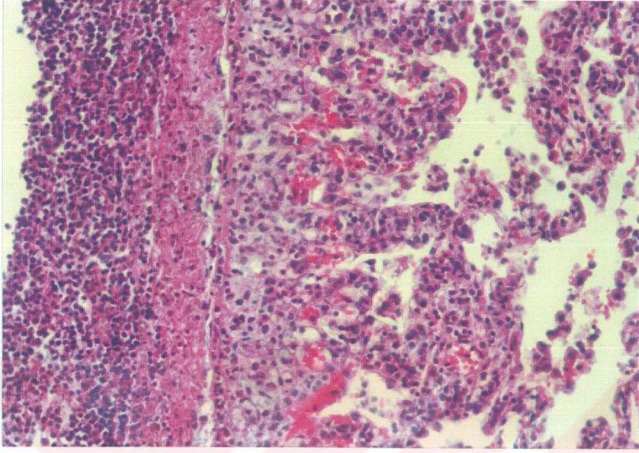
Şekil 24. İntratraheal inokülasyon sonrası 10. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 9). Akciğerde geniş nekroz alanı. HE, x60.



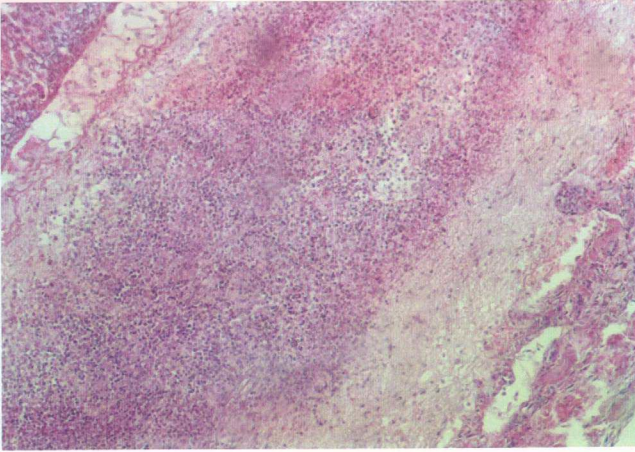
Şekil 25. İntratraheal inokülasyon sonrası 8. günde ölen tavşan (No. 6) Çok çekirdekli dev hücre oluşumları (oklar). HE, x600.



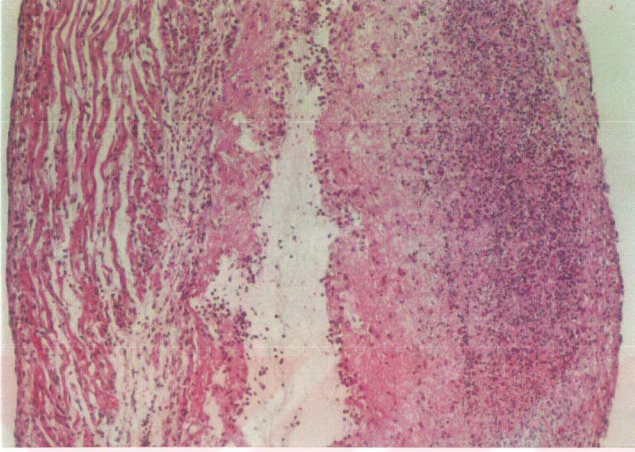
Şekil 26. İntratraheal inokülasyon sonrası 12. günde ölen tavşan (No. 10). Akciğerde alveol makrofajlarının sitoplazmalarında kokobasil şeklinde görülen Gram-negatif *Pasteurella multocida*'lar (oklar). Brown-Brenn Gram, x1400.



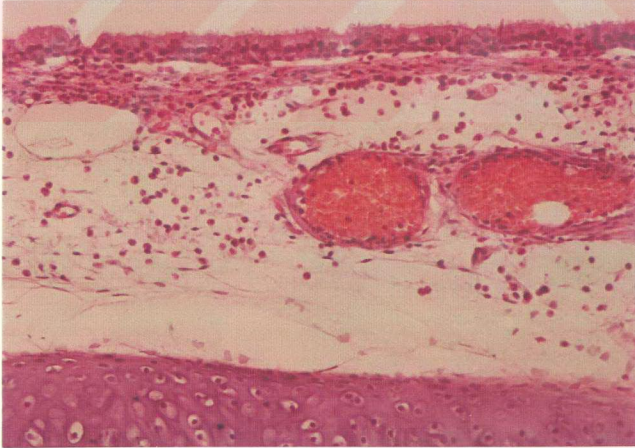
Şekil 27. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. günde ölen tavşan (No. 8). Fibrinopurulent plöritis. HE, x320.



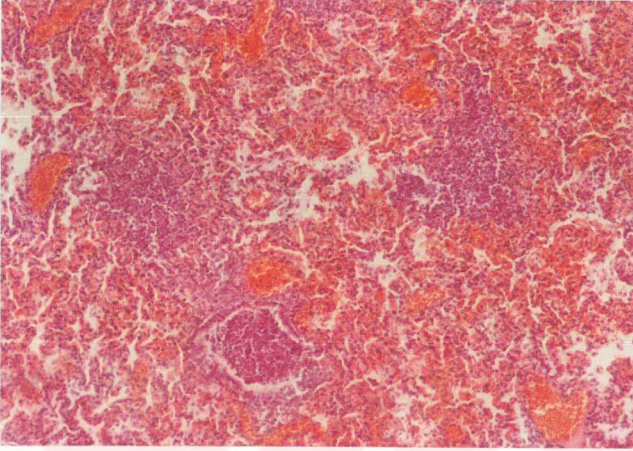
Şekil 28. İntratraheal inokülasyon sonrası 12. günde ölen tavşan (No. 10). Akciğerin plöral yüzeyi ile diafragma arası fibrinopurulent eksudatla dolu durumda. HE, x160.



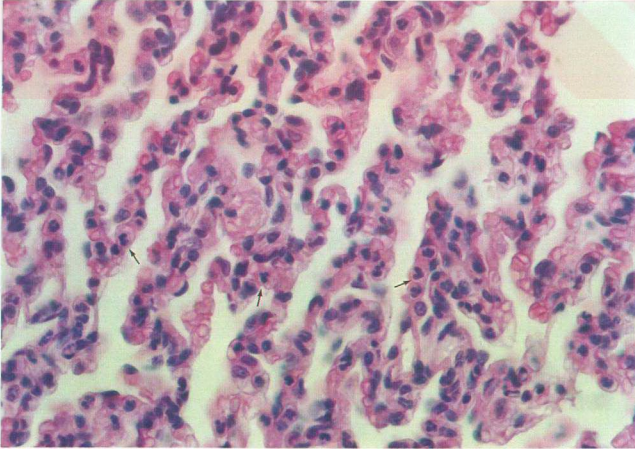
Şekil 29. İntratraheal inokülasyon sonrası 4. günde ölen tavşan (No. 1). Fibrinopurulent perikarditis. HE, x160.



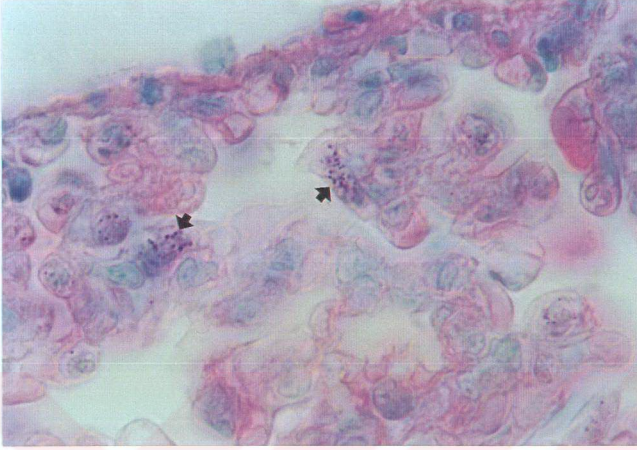
Şekil 30. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 2). Traheanın lamina propria'sında hiperemik damarlar ve ödem ile birlikte nötrofil granülositler ve mononükleer hücrelerden oluşan yaygın hücre infiltrasyonu. HE, x320.



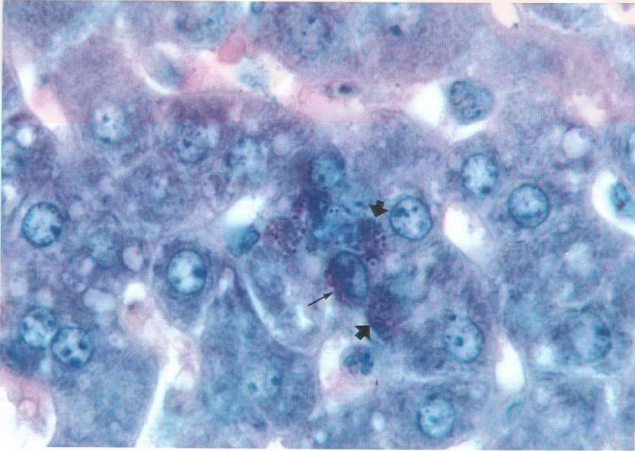
Şekil 31. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 4). Akciğerde şiddetli hiperemi, kanama alanları, alveol lumenlerinde nötrofil granülositlerin yer aldığı fokal yangısal alanlar ve bir bronşiol lumeninde yer alan hücresel eksudat. HE, x160.



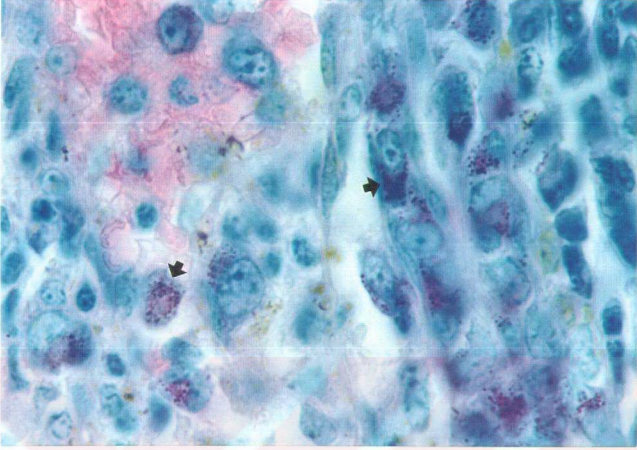
Şekil 32. İntravenöz inokülasyon sonrası 10. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 8). Akciğerde interalveoler kapillarların lumenlerinde bulunan bol miktarda nötrofil granülosit (oklar). HE, x600.



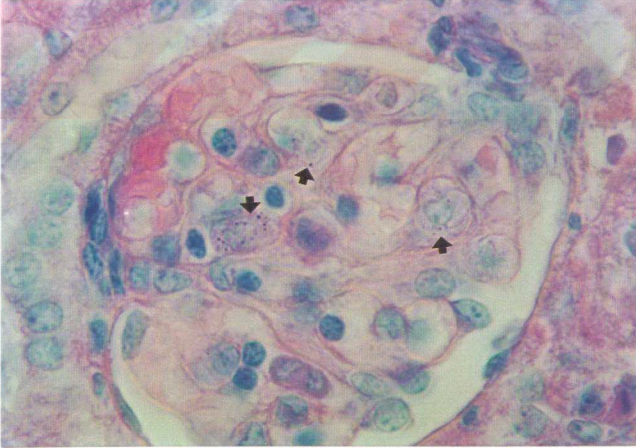
Şekil 33. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 2). Akciğerde interalveoler kapillar lumenlerindeki nötrofil granülositlerin sitoplazmalarında *Pasteurella multocida*'lar (oklar). MayGrunwald-Giemsa, x1400.



Şekil 34. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 3). Karaciğerde Kupffer hücrelerinin (ok başları) ve bir hepatositin (ok) sitoplazmalarında kokobasil şeklindeki *Pasteurella multocida*'lar. MayGrunwald-Giemsa, x1400.



Şekil 35. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 3). Dalakta retiküler hücrelerin sitoplazmalarında *Pasteurella multocida*'lar (oklar). MayGrunwald-Giemsa, x1400.



Şekil 36. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 3). Böbrekte kapiller lumenlerinde yer alan nötrofil granülositlerin sitoplazmalarında *Pasteurella multocida*'lar (oklar). MayGrunwald-Giemsa, x1400.

3.5. Elektron Mikroskopik Bulgular

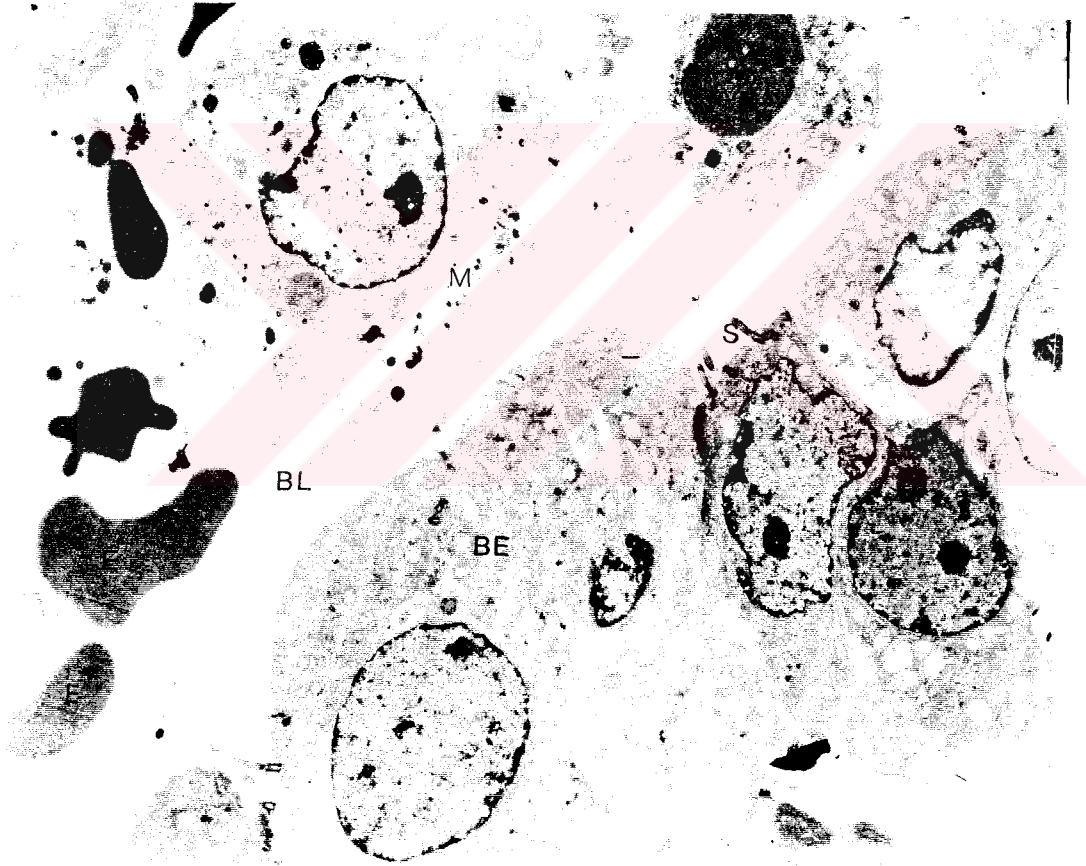
Elektron mikroskopik bulgular her üç gruptaki pnömoni şekillenen tavşanlarda benzer özellikteydi.

Bronşiol lumenlerinde normal ve dejenere nötrofil granülositler, makrofajlar ve serbest eritrositler görüldü (Şekil 37). Konsolidasyon alanlarının ultrastruktural incelemelerinde alveol lumenlerinin değişen miktarlarda nötrofil granülosit ve makrofajlarla dolu olduğu dikkati çekti (Şekil 38 ve 39). Nötrofil granülositlerin çekirdekleri loblu yapıdaydı. Makrofajlar çekirdeklerinde perifer heterokromatine ve belirgin nükleoluslara sahipti. Bazı makrofajların çekirdekleri hücre duvarına yakın konumda iken, bazılarının çekirdekleri orta kısımda yer almaktaydı. Bu hücrelerin sitoplazmalarında çok sayıda fagositik vakuol ve elektron yoğun lizozom gözlemlendi. Makrofajlarda oldukça fazla psödopod bulunmaktaydı.

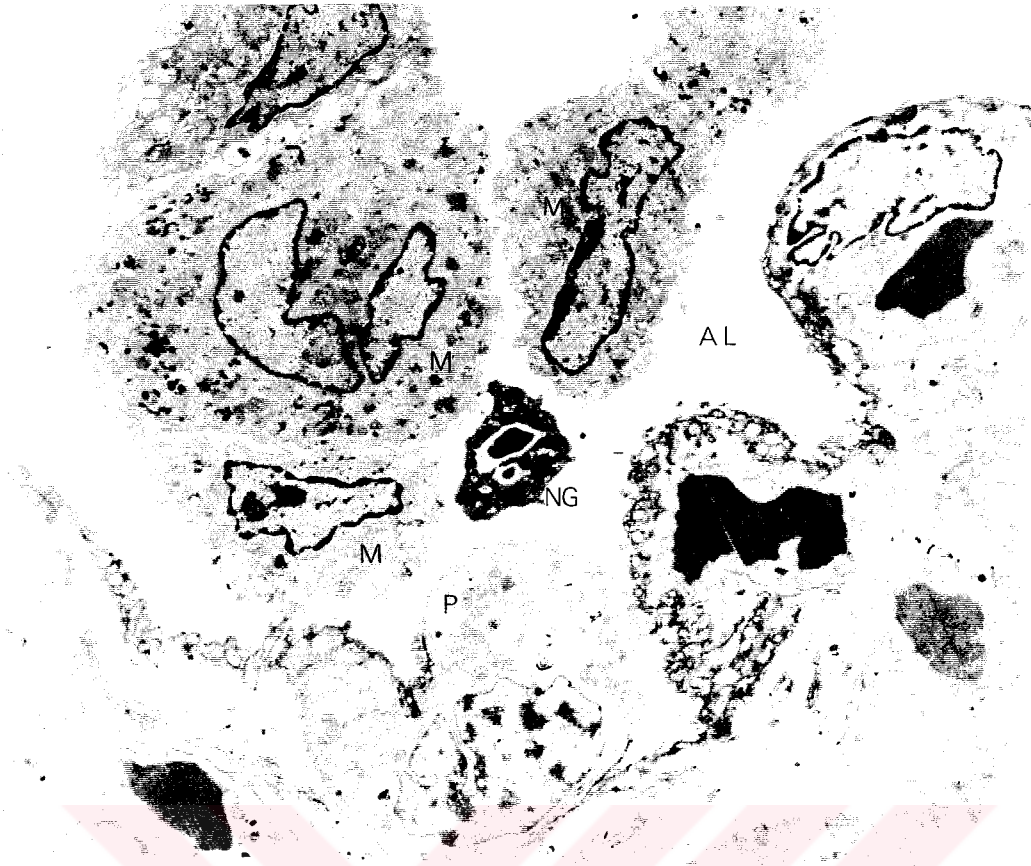
Alveol lumenlerinde serbest halde ya da nötrofil granülositler tarafından fagosit edilmiş durumda fagozomlar ya da fagolizozomlar içinde *Pasteurella multocida*'lar görüldü (Şekil 40-42). *Pasteurella multocida*'lar yaklaşık 0,3-0,5 µm çapında ve 0.6-1.2 µm uzunluğunda olup kokobasil şeklindeydi. Birçok bakterinin sitoplazmasında elektron-lusent alanlar mevcuttu. Etkenlere makrofajlarda da rastlandı. Alveol lumenlerinde yoğun miktarlarda hücre artık ürünleri yer almaktaydı. İntravasküler, intraalveoler ve interstisyel yoğun fibrin kitlelerine rastlandı (Şekil 43 ve 44). Fibrin irili ufaklı elektron yoğun iplikli yapılar halindeydi. Damar endotelinde hafif dejeneratif değişiklikler dikkati çekti. Tip II pnömonositlerde sayıca normale göre hafif bir artışla karşılaşıldı. Tip II pnömonositlerin çekirdeklerinde perifer heterokromatin yapıları görüldü. Bu hücrelerin alveol lumenine bakan bölgelerinde mikrovilluslar bulunmakta olup endoplazmik retikulum sisternaları genişlemiş durumdaydı. Çoğu tip II pnömonositteki lamellar cisimciklerin yapısal olarak bozulduğu gözlemlendi. İnteralveoler septum hafif ödemliydi. İnteralveoler kapillar lumenlerinde çok sayıda

nötrofil granülosite rastlandı (Şekil 45). Bu hücrelerin sitoplazmalarında fagosit edilmiş halde *Pasteurella multocida*'lar gözlendi.

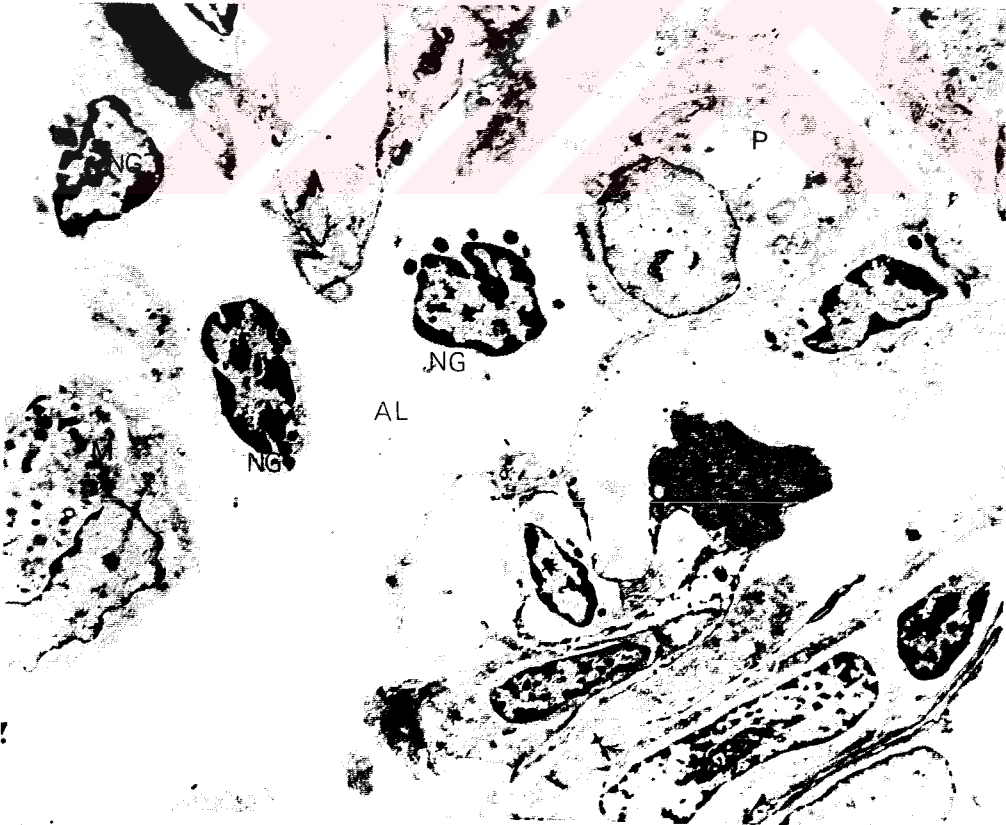
İntravenöz inokülasyon grubunda pnömoni şekillenmemiş fakat hipereminin olduğu tavşanlardaki akciğerlerin elektron mikroskopik incelemelerinde de inter-alveoler kapillarlarda çok sayıda nötrofil granülosite ve bunların sitoplazmalarında fagozomlar ya da fagolizozomlar içinde normal ya da dejenere *Pasteurella multocida*'lara rastlandı (Şekil 46).



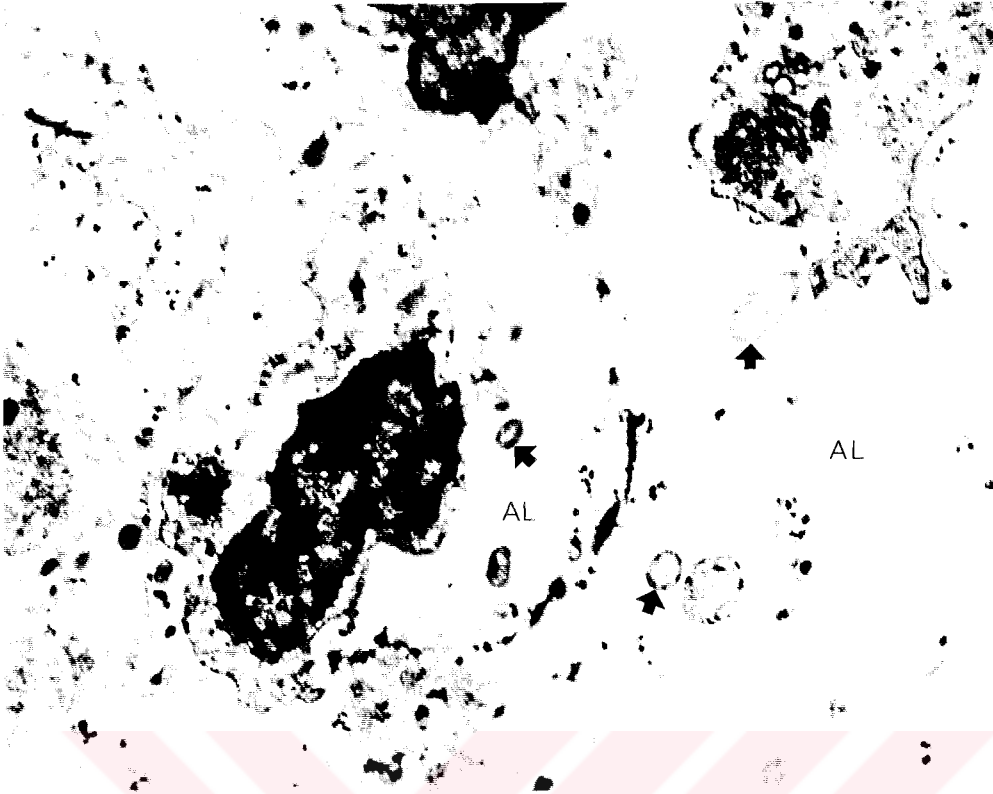
Şekil 37. İntranazal inokülasyon sonrası 10. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 8). Bronşiol lumeninde makrofajlar (M) ve serbest eritrositler (E). (BL) Bronşiol lumeni, (BE) bronşiol epiteli, (S) silium. x3600.



Şekil 38. İntratraheal inokülasyon sonrası 10. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 9). Alveol lumeninde çok sayıda makrofaj (M) ve bir adet nötrofil granülosit (NG). (AL) Alveol lumeni, (P) tip II pnömonosit. x3700.



Şekil 39. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ölen tavşan (No. 2). Alveol lumeninde alveol makrofajı (M) ve nötrofil granülositler (NG). (AL) Alveol lumeni, (P) tip II pnömonosit. x3700.



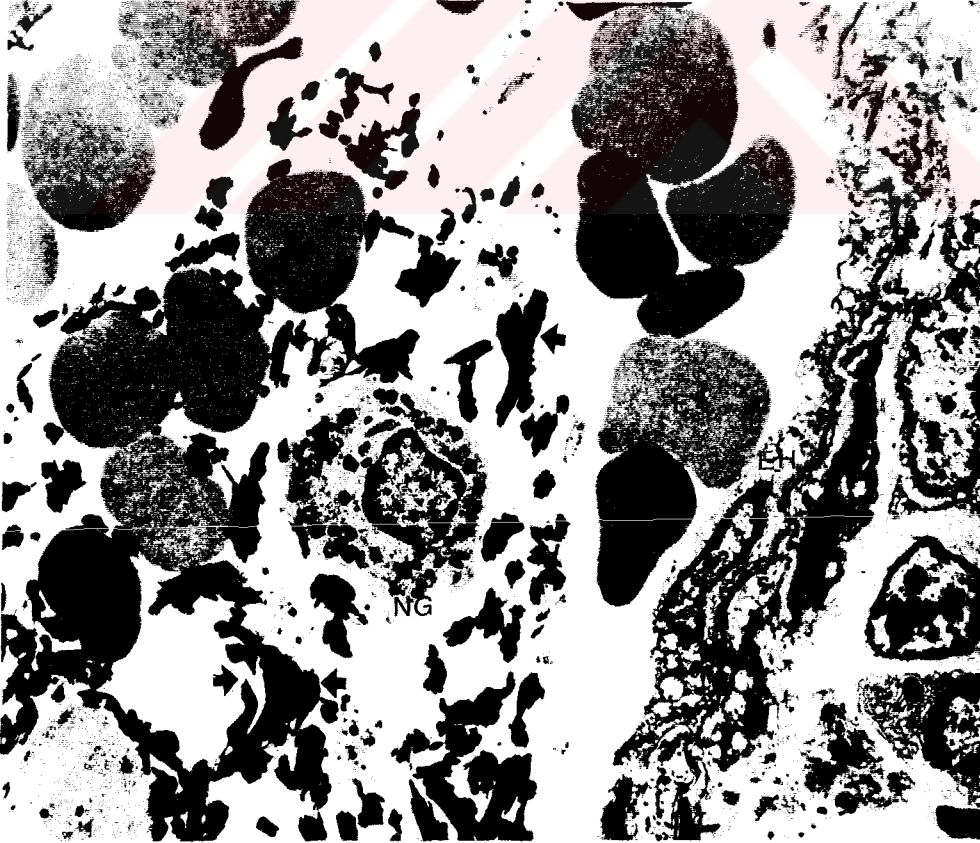
Şekil 40. İntranazal inokülasyon sonrası 10. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 7). Alveol lumeninde serbest halde görülen *Pasteurella multocida*'lar (oklar). (AL) Alveol lumeni. x6400.



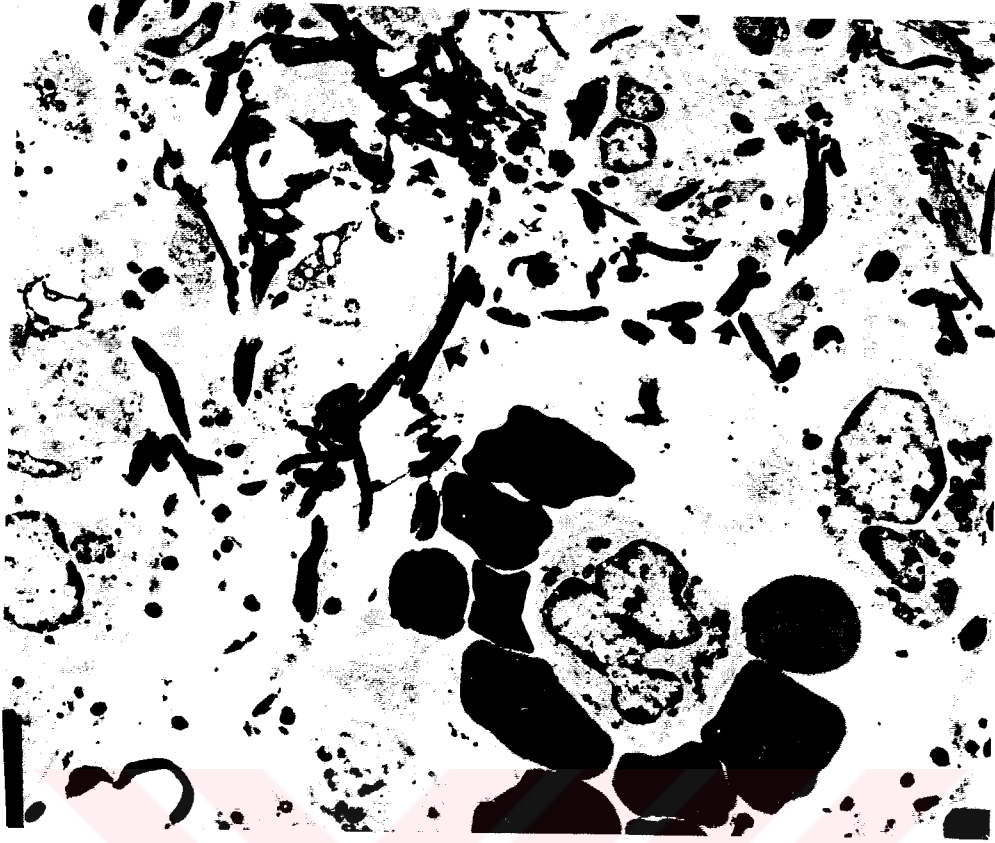
Şekil 41. İntranazal inokülasyon sonrası 4. günde ölen tavşan (No. 1). Bir nötrofil granülositin sitoplazmasında *Pasteurella multocida*'lar (oklar). (n) Nukleus. x7600.



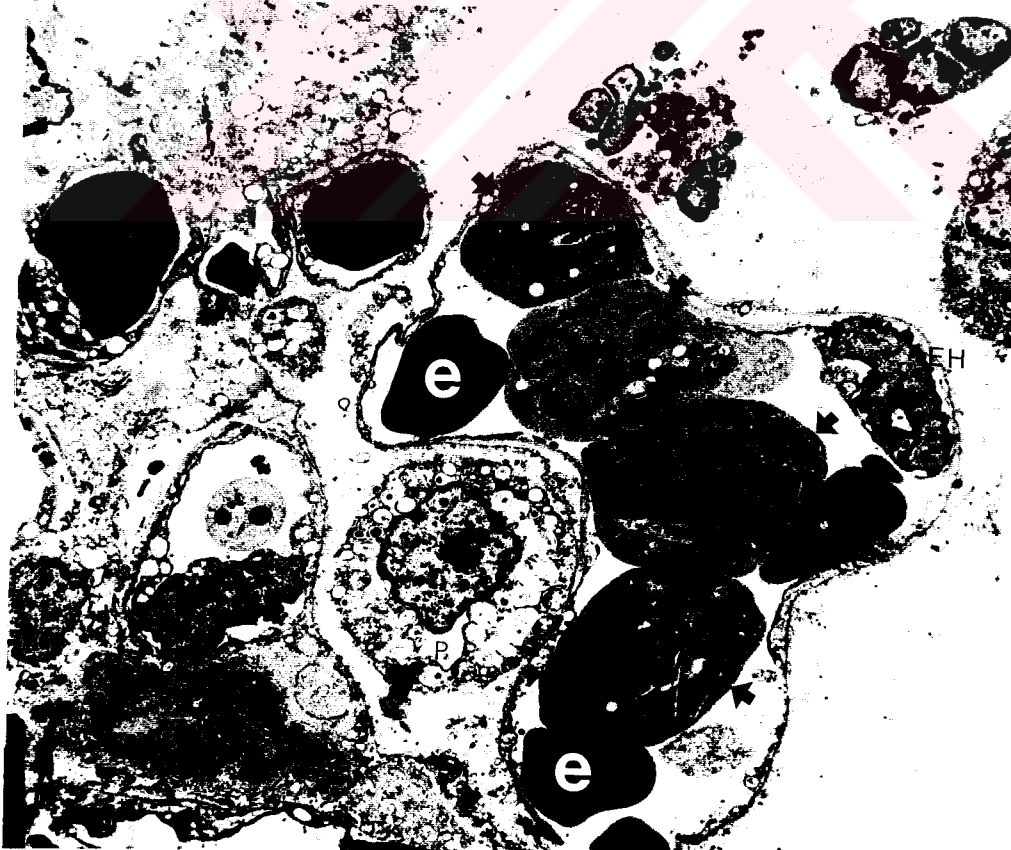
Şekil 42. İntranazal inokülasyon sonrası 4. günde ölen tavşan (No. 1). Bir nötrofil granülositin sitoplazmasında görülen *Pasteurella multocida*'lar (oklar). Bakterilerin sitoplazmalarında elektronlulent bölgeler. (n) Nukleus. x7600.



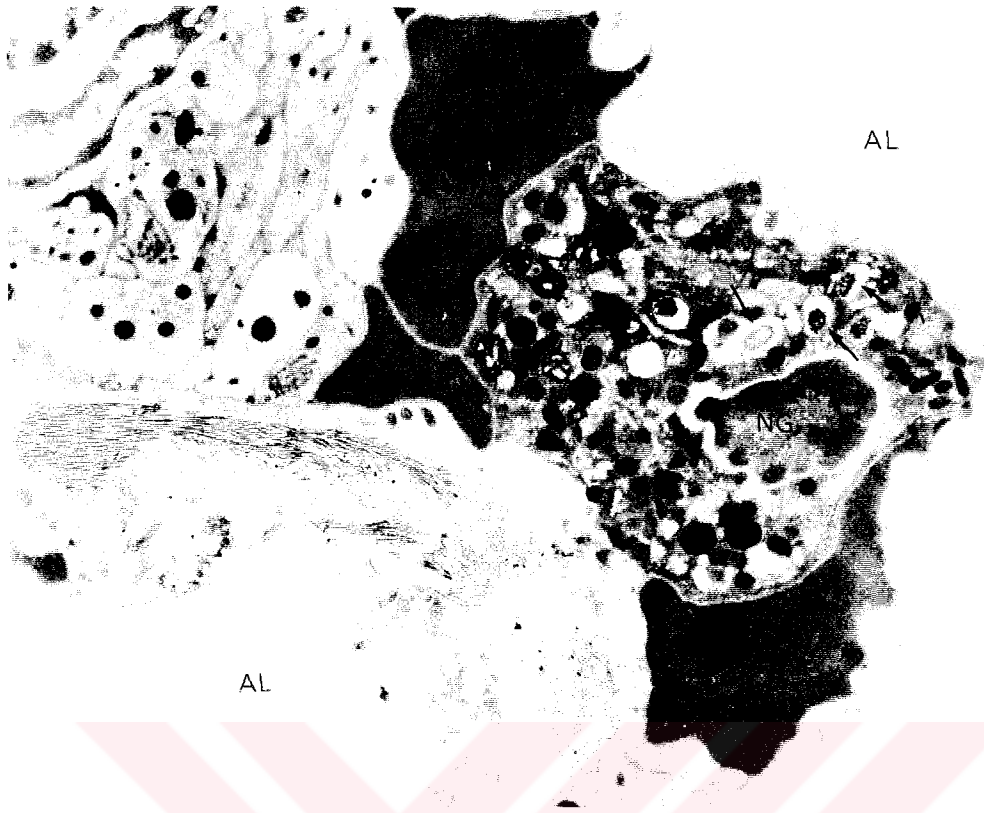
Şekil 43. İntranazal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 2). İntravasküler fibrin oluşumları (oklar). (E) Eritrosit, (NG) nötrofil granülosit, (EH) endotel hücresi. x3600.



Şekil 44. İntranasal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 3). Akciğer parenkiminde yoğun fibrin kitleleri (oklar). x3600.



Şekil 45. İntratraheal inokülasyon sonrası 5. günde ölen tavşan (No. 2). İnteralveoler kapillar lumeninde çok sayıda nötrofil granülosit (oklar). (EH) Endotel hücresi, (P) tip II pnömonosit. x2800.



Şekil 46. İntravenöz inokülasyon sonrası 6. günde ötanazi yapılan tavşan (No. 3). İnteralveoler kapillar lumenindeki nötrofil granülosit (NG) sitoplazmasındaki fagozomlar içinde *Pasteurella multocida*'lar (oklar). (AL) Alveol lumeni, (E) eritrosit. x7600.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada *Pasteurella multocida*'nın intranazal, intratraheal ve intravenöz inokülasyonları ile tavşanlarda oluşturulan pastörellozisin patolojik bulguları makroskobik, mikroskobik ve elektron mikroskobik olarak değerlendirilmiştir.

Her üç gruptaki tavşanlar inokülasyonu izleyen günlerde genellikle normal göründüler; fakat ölümlerinden 24 saat öncesinde iştahsızlık, durgunluk, tüylerde kabarma ve solunum güçlüğü bulguları saptandı. Bu bulgular diğer araştırmacılar tarafından bildirilen bulgular ile benzerlik göstermektedir (Dillehay ve ark., 1990; Percy ve ark., 1986).

Pastörellozise bağlı doğal pnömoni salgınlarında ölüm oranı Flatt (1974) tarafından % 5-50, Hagen (1958) tarafından % 4 ve Ostler (1961) tarafından % 27 olarak bildirilmiştir. Deneysel enfeksiyonlarda bu oran daha yüksektir (Flatt ve Dungworth, 1971b; Glavits ve Magyar, 1990; Percy ve ark., 1986; Webster, 1925). Bu çalışmada intranazal yolla enfekte edilen deneme grubundaki 12 tavşandan 5'i (% 41) öldü. Ölümler tavşanların 1'inde dördüncü günde, 2'sinde beşinci günde, 1'inde altıncı günde ve 1'inde de on dördüncü günde görüldü. Glavits ve Magyar (1990) intranazal olarak *Pasteurella multocida*'nın farklı serotipleri ile oluşturdukları enfeksiyonda serotip 12:A ile 6 tavşandan 4'ü (%66), serotip 4:A ile 6 tavşandan 2'si (%33) ve serotip 3:A ile de 6 tavşandan 1'i (%17) olmak üzere toplam 18 tavşandan 7'sinin (%39) öldüğünü bildirmişlerdir. Sokkar ve ark. (1987) enfekte edilen 15 tavşandan 10'unun ilk haftada olmak üzere dört haftalık dönemde tüm tavşanların (%100) öldüğünü kaydetmişlerdir. Bir başka çalışmada ise intranazal yolla enfekte edilen 18 tavşandan 11'inin (%61) ikinci ve on ikinci günler arasında öldüğü bildirilmiştir (Webster, 1925). Bu çalışmada intratraheal inokülasyon deneme grubundaki 12 tavşandan 10'unda (%83) ölüm görüldü. On tavşandan 1'i dördüncü günde, 1'i beşinci günde, 3'ü altıncı günde, 1'i sekizinci günde, 2'si dokuzuncu günde, 1'i on ikinci günde ve 1'i de on üçüncü günde öldü. İntratraheal yolla

inokülasyon çalışmalarında, Percy ve ark. (1986) *Pasteurella multocida* 3:A serotipi ile 6 tavşandan 4'ünün (%66) öldüğünü, Flatt ve Dungworth (1971b) 18 tavşandan 5'inin (%28) sekizinci ve on yedinci günler arasında öldüğünü ve Webster (1925) enfekte ettiği 6 tavşanın hepsinin (%100) pnömoni ve sepsisemi sonu öldüğünü belirtmişlerdir. Bu çalışmada intravenöz inokülasyon deneme grubundaki 12 tavşandan 3'ünde (%25) altıncı günde ölüm görüldü. İntravenöz yolla inokülasyonlara ilişkin bir çalışmada enfekte edilen 8 tavşandan 3'ünün on yedinci saatte, 2'sinin kırk sekizinci saatte ve kalan 3'ünün de üçüncü ve beşinci günler arasında olmak üzere hepsinin (%100) öldüğü belirtilmiştir (Webster, 1925). Percy ve ark. (1986) yaptıkları çalışmada enfekte edilen 6 tavşandan 2'sinin (%33) inokülasyonu izleyen on sekiz saat içinde öldüğünü kaydetmişlerdir. Yapılan çalışmalarda ölümlerin genel olarak birinci ve dokuzuncu günler arasında yoğunlaştığı belirtilmiştir (Sokkar ve ark. 1987; Webster, 1925). Bu çalışmada ölümler dördüncü ve on dördüncü günler arasında dağılım gösterdi, fakat ölümlerin yoğunluk kazandığı bir aralık yoktu. Bu çalışmadaki ölüm oranları ile diğer araştırmacılar tarafından yapılan deneysel çalışmalarda bildirilen ölüm oranları karşılaştırıldığında, kesin bir sınır belirlemenin güç olduğu anlaşılmaktadır. Ölüm oranlarındaki bu geniş dağılımın konakçının direnci, çevre koşulları, etkenin virülensi ve dozundaki farklılıklardan kaynaklandığı ileri sürülmüştür (DeLong ve Manning, 1994; Flatt, 1974). Sokkar ve ark. (1987) ölüm oranlarındaki farklılığın inokülasyonun veriliş yoluna ya da dozuna bağlı olmadığını belirtmişlerdir. Bunu *Pasteurella multocida* 'nın değişik suşlarının patojenik karakterlerindeki farklılığa bağlamışlar ve konakçı ile etken arasındaki kontakt ilişkisinin de bakteri virülensini etkilediğini ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada *Pasteurella multocida* 3:A serotipinin hemen hemen eşit dozları inoküle edilmesine ve tavşanlara aynı koşullarda bakılmasına rağmen gruplar arasında patolojik bulguların şiddeti ve ölüm oranları farklı oldu. Bu durum farklılığa konakçı etken arasındaki ilişki yanında inokülasyon yolunun da neden olabileceği fikrini kuvvetlendirmiştir.

Çalışmada *Pasteurella multocida* 3:A serotipinin tavşanlara üç ayrı yolla, özellikle de intranazal olarak, verilmesine rağmen rinitise ilişkin makroskobik ve mikroskobik bir bulguyla karşılaşılmamıştır. Literatürde *Pasteurella multocida*'ya

bağlı sero-müköz rinitis ve ileri dönemde turbinata kemiklerinde atrofi şekillendiği belirtilmiştir (DiGiacomo ve ark., 1989; Webster, 1925). Tavşanlarda bazı suşların primer olarak rinitis şekillendirirken, diğer bazı suşların septisemi ve pnömoniye yol açtığı belirtilmiştir (DeLong ve ark., 1994; Glavits ve Magyar, 1990). Bu çalışmada rinitis şekillenmemesinin nedeni hakkında kesin bir sonuca ulaşılmamasına rağmen, etkenin serotipinin bunda etkili olabileceği düşünüldü.

Çalışmada intranazal ve intravenöz deneme gruplarından birer tavşanda traheitise rastlanmıştır. Glavits ve Magyar (1990) *Pasteurella multocida* ile intranazal olarak enfekte ettiği tavşanlarda traheitis geliştiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada inokülasyonlar sonrası en sık karşılaşılan bulgu pnömoniydi. İntranazal inokülasyon deneme grubundaki 12 tavşanın 6'sında (%50), intratraheal inokülasyon deneme grubundaki tavşanların 9'unda (%75) ve intravenöz inokülasyon deneme grubunda ise 2 tavşanda (%16) pnömoni şekillendi. Webster (1925) intratraheal olarak enfekte ettiği 6 tavşanın hepsinin pnömoni ve septisemi sonu öldüğünü bildirmiştir. Hagen (1958) doğal ve deneysel pastörellozis olgularında akciğer lezyonlarının sıklıkla gözlendiği bildirmiştir. Flatt ve Dungworth (1971b) insan tüketimi için kesilen tavşanların makroskopik incelemelerinde %20 oranında pnömoni tespit etmişlerdir. Percy ve ark. (1986) *Pasteurella multocida* 3:A serotipi ile intratraheal olarak enfekte ettikleri 6 tavşanın tümünde, intravenöz olarak enfekte ettikleri 6 tavşanın ise 3'ünde pnömoni alanlarının olduğunu belirtmişlerdir. Dillehay ve ark. (1990) Flemis Giant ve Yeni Zelanda Beyazı 5'er tavşanı intranazal olarak 4×10^8 dozunda *Pasteurella multocida* 3:A serotipi ile enfekte ettiklerini ve Flemis Giant'lardan 4'ünde, Yeni Zelanda Beyazları'ndan ise 1'inde pnömoni şekillendiğini rapor etmişlerdir.

Deneme gruplarındaki tavşanların akciğerlerindeki lezyonlar yayılım özelliğine göre değerlendirildiğinde, konsolidasyon alanlarının intranazal inokülasyon deneme grubundaki tavşanlardan 3'ünde kranioventral loblara yerleştiği ve 3'ünde de diffuz olduğu, intratraheal inokülasyon deneme grubundaki 9 tavşanda diffuz olarak geliştiği ve intravenöz inokülasyon deneme grubundaki tavşanlardan

1'inde kranioventral olarak ve 1'inde de diffuz olarak geliştiği görüldü. Webster (1925) intratraheal olarak enfekte ettiği 6 tavşanın 2'sinde diffuz, diğerlerinde fokal konsolidasyonların olduğunu rapor etmiştir. Percy ve ark. (1986) *Pasteurella multocida* 3:A serotipi ile intratraheal olarak enfekte ettikleri 6 tavşanın tümünde akciğerlerin kranioventral kısımlarında konsolidasyon alanlarının olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar intravenöz olarak inoküle ettikleri 6 tavşandan 3'ünde ise fokal ya da diffuz pnömoni alanları ile karşılaştıklarını ifade etmişlerdir. Sokkar ve ark. (1987) *Pasteurella multocida* ile intranazal olarak enfekte ettikleri 15 tavşanın bazılarının akciğerlerinde diffuz konsolidasyon, bazılarında ise kranioventral bölgelerle sınırlı konsolidasyonlara rastladıklarını bildirmişlerdir.

Akciğerlerdeki yangı tipi göz önüne alınarak yapılan değerlendirmede, her üç inokülasyon deneme grubundaki pnömoni tipinin fibrinopurulent ve nekrotik özellikte olduğu görüldü. Bu pnömoni alanlarındaki bronş ve bronşiol lumenlerinde normal ve dejenere nötrofil granüositler ve dökülmüş epitel hücreleri dikkati çekti. Bronşiol epitel hücrelerinin kısmen ya da tümüyle nekroze uğradığı tavşanlarda yaygın şekilde fokal nekrozlar ve kanama alanları şekillenmişti. Alveol lumenlerinde yoğun şekilde nötrofil granüositler, az sayıda makrofaj ve yer yer fibrin kitleleri toplanmıştı. Ödemli alveollerin ve eksudatla tıkalı bronşiollerin çevresinde ise yaygın amfizem ve atelektazi bölgelerine rastlandı. Tüm damarların hiperemik olduğu, interalveoler dokuların genişlediği ve pnömoni alanlarının çevresindeki alveollerde pembe renkte ödem sıvısı dikkati çekti. Flatt ve Dungworth (1971b) *Pasteurella multocida* ile intratraheal olarak 18 tavşanı enfekte etmişler ve makroskopik lezyonların solunum sistemiyle sınırlı olduğunu belirtmişlerdir. Bunlardan ikinci günde nekropsisi yapılan 3 tavşanda akut kataral bronkopnömoni, altıncı ve sonraki günlerde nekropsileri yapılan 8 tavşanda ise fibrinopurulent nekrotik pnömoni görüldüğünü belirtmişlerdir. Percy ve ark. (1986) *Pasteurella multocida* serotip 3:A ile intratraheal olarak enfekte ettiği 6 tavşandan 4'ünde fibrinopurulent pnömoniye rastladıklarını rapor etmişlerdir. Sokkar ve ark. (1987) *Pasteurella multocida* ile intranazal olarak enfekte ettikleri tavşanlarda purulent nekrotik bronkopnömoni yanında bazen serofibrinöz ya da fibrinopurulent bronkopnömoniye rastlandığını belirtmişlerdir.

İntratraheal inokülasyon deneme grubundaki iki tavşanda akciğerde alveol lumenlerinde çok çekirdekli dev hücre oluşumları gözlemlendi. Doğal ve deneysel pastörellozis olgularının mikroskopik incelemelerinde alveol lumenlerinde çok çekirdekli dev hücre oluşumlarına rastlanıldığı diğer araştırmacılar tarafından da belirtilmiştir (Flatt ve Dungworth, 1971b; Thomas ve ark., 1989; Webster, 1925). Flatt ve Dungworth (1971b) çok çekirdekli dev hücrelerinin alveol lumenindeki birkaç makrofajın birleşmesiyle oluştuklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada intranazal inokülasyon deneme grubunda plöritis % 17, perikarditis % 8 ve pyotoraks % 8 oranında şekillendi. İntratraheal inokülasyon deneme grubunda ise plöritise % 25, perikarditise % 17 ve pyotoraksa %17 oranında rastlandı. Percy ve ark. (1986) *Pasteurella multocida* serotip 3:A ile intratraheal olarak enfekte ettikleri 6 tavşandan 4'ünde (%66) fokal ya da diffuz fibrinopurulent plöritis ve perikarditise rastladıklarını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar *Pasteurella multocida* serotip 3:A ile intravenöz olarak enfekte ettikleri 6 tavşandan sadece 1'inin (%16) on dördüncü günde yapılan nekropsisinde sağ akciğerin orta lobunda plöral yapışmaların olduğu konsolidasyon alanlarını bildirmişlerdir. Sokkar ve ark. (1987) *Pasteurella multocida* ile intranazal olarak enfekte ettikleri tavşanların bazılarında fibrinopurulent plöritis, fibrinöz perikarditis ve peritonitise karşılaştığını bildirmişlerdir. Dillehay ve ark. (1990) *Pasteurella multocida* ile intranazal olarak enfekte ettikleri Flemis Giant ırkı 5 tavşandan 3'ünde (%60) on iki gün içinde pyotoraks, plöritis, perikarditis ve akciğer apseleri görüldüğünü, Yeni Zelanda Beyazı ırkı 5 tavşandan 1'inde (%20) on dördüncü günde pyotoraks ve plöritise rastlanırken, perikarditis şekillenmediğini belirtmişlerdir.

Tavşan pastörellozisinde akciğer lezyonları elektron mikroskopik olarak yalnızca Redondo ve ark. (1990) tarafından incelenmiştir. Diğer hayvanlarda pnömonik pastörellozis üzerinde yapılan elektron mikroskopik çalışmalar da çok azdır (Pace ve ark., 1994; Whiteley ve ark., 1991). Ultrastruktural incelemeyi Whiteley ve ark. (1991) buzağılar üzerinde, Pace ve ark. (1994) fareler üzerinde gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada elektron mikroskopik bulgular her üç gruptaki

pnömoni şekillenen tavşanlarda benzer özellikteydi. Bronşiol ve alveol lumenlerinin değişen miktarlarda nötrofil granülosit ve makrofajla dolu olduğu dikkati çekti. Alveol duvarlarında tip II pnömonositler yer yer belirginleşmişti. Dikkat çeken bir bulgu da yoğun fibrin kitlelerinin varlığıydı. Fibrin kitleleri kapillar lumenlerinde, alveol lumenlerinde ve interalveoler dokuda gözlendi. Kapillar lumenlerinde Whiteley ve ark. (1991) tarafından da tanımlanan fibrin kitlelerinin varlığı damar içi pıhtılaşmanın bir bulgusu olarak değerlendirildi. Gram-negatif bakteri endotoksinleri disemine damar içi pıhtılaşmanın nedenlerinden biri olarak bilinmektedir (Jubb ve ark., 1993). İnteralveoler kapillar lumenlerinde çok sayıda nötrofil granülosite rastlandı. Bu hücrelerin sitoplazmalarında fagozomlar ya da fagolizozomlar içinde normal ya da dejenere *Pasteurella multocida*'lar gözlendi. Etkenlerin nötrofil granülositlerin sitoplazmalarındaki varlığı diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Pace ve ark., 1994; Redondo ve ark., 1990; Whiteley ve ark., 1991).

Çalışmada gerek Brown-Brenn Gram ve MayGrunwald-Giemsa boyamalarda, gerekse elektron mikroskopik incelemelerde etkenler alveol lumenlerindeki nötrofil granülositler ile makrofajlarda ve interalveoler kapillar lumenlerindeki nötrofil granülositlerde görüldü. Bu durum etkenlerin hangi yolla organizmaya girerse girsin yayılmasında solunum yolu kadar kan dolaşımının da etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Pasteurella multocida*'nın solunum yoluyla direkt ya da hematogen olarak konakçıda yayıldığı bildirilmiş ve intranazal, intratraheal ya da intravenöz inokülasyonlarla pnömoni şekillendirilmiştir (Flatt ve Dungworth, 1971b; Lu ve Pakes, 1981; Percy ve ark., 1986; Redondo ve ark., 1990; Sokkar ve ark., 1987).

Deneme gruplarındaki ölüm oranları, pnömoni şekillenme oranları ve pnömoni şiddetleri kıyaslandığında en etkin inokülasyon yolunun intratraheal yol olduğu, daha az olarak da intranazal yol olduğu görüldü. İntravenöz yol ise en az etkili inokülasyon yolu olarak belirlendi. Webster (1925) *Pasteurella multocida*'nın farklı inokülasyon yolları üzerine çalışmıştır. İntranazal, intratraheal ve intravenöz yollarla *Pasteurella multocida*'yı tavşanlara inoküle eden araştırmacı akut pnömoni

lezyonlarının meydana getirilmesinde intravenöz yolun nispeten güvenilir bir yöntem olduğu sonucuna varmıştır. Percy ve ark. (1986) bir grup tavşana *Pasteurella multocida* 3:A serotipini intravenöz ve intratraheal olarak inoküle ettiklerini ve akciğer lezyonlarının intravenöz inokülasyon deneme grubundaki bazı tavşanlarda meydana gelirken, intratraheal inokülasyon deneme grubundaki tavşanların tümünde şekillendiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar diğer inokülasyon yollarının enfeksiyon oluşturmada başarı şansının sınırlı olduğunu belirtmişlerdir. Her ne kadar doğal bir yol olmasa da, akciğer lezyonlarının oluşturulması ve incelenmesi çalışmalarında intratraheal inokülasyonun etkin bir başarı sağladığı bu çalışmada da görülmüştür.



ÖZET

Tavşanlarda Deneysel Pastörelloziste Patolojik Bulgular

Yeni Zelanda Beyazı 6-8 haftalık tavşanlara intranazal, intratraheal ve intravenöz olarak tavşan orijinli *Pasteurella multocida* 3:A serotipi inoküle edilmiştir. *Pasteurella multocida* intranazal ve intratraheal gruplara 0.5×10^8 CFU, intravenöz gruba 0.5×10^7 CFU dozunda inoküle edilmiştir. Hayvanlar inokülasyon sonrası 4-6, 8-10 ve 14. günlerde ölmüş ya da ötanazi uygulanmıştır.

Tüm dokular makroskopik ve mikroskopik olarak muayene edilmiştir. Bunlara ilaveten, akciğer lezyonları elektron mikroskopik olarak incelenmiştir. Akciğer lezyonları intratraheal inokülasyon yapılan tavşanların 9'unda şekillenmiştir. İntranazal inokülasyon, intratraheal inokülasyondan daha az etkili bulunmuştur. Lezyonlar intravenöz olarak inoküle edilen tavşanlarda çok az görülmüştür. *Pasteurella multocida* 3:A serotipi inoküle edilmiş tüm gruplarda özellikle aşağı solunum sistemi lezyonları şekillenmiştir. Akciğer ve plöra lezyonları intranazal olarak inoküle edilmiş hayvanların %50'sinde, intratraheal olarak inoküle edilmiş hayvanların %75'inde ve intravenöz olarak inoküle edilmiş hayvanların ise %17'sinde görülmüştür.

Tavşanlarda histolojik olarak şiddetli fibrinopurulent ve nekrotik pnömoni, fibrinopurulent plöritis ve fibrinopurulent perikarditise rastlanmıştır.

Pasteurella multocida 'lara elektron mikroskopik olarak serbest halde alveol boşluklarında ve fagosit edilmiş halde kapillar lumenlerindeki ve alveol boşluklarındaki nötrofil granülositlerde rastlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Elektron mikroskopi, *Pasteurella multocida*, Pastörellozis, Tavşan

SUMMARY

Pathological Findings of Experimental Pasteurellosis in Rabbits

Three groups of New Zealand White rabbits, 6-8 week olds, were inoculated with *Pasteurella multocida* serotype 3:A strain of rabbit origin by intranasal, intratracheal and intravenous inoculations, respectively. Intranasal and intratracheal groups were inoculated with 0.5×10^8 and intravenous group 0.5×10^7 colony forming units of *Pasteurella multocida*. Animals which died or were killed after the 4-6, 8-10 and 14 days observation periods.

All of tissue were examined macroscopically and microscopically. In addition, pulmonary lesions were examined with electron microscopically. Pneumonic lesions were most consistently in rabbits inoculated intratracheally. Intranasal inoculation was more less effective than intratracheal inoculation. The lesions were minimal in rabbits of intravenously inoculated. All of the routes of *Pasteurella multocida* serotype 3:A inoculations produced especially the lower respiratory tract lesions. Pulmonary lesions were observed in %50 of animal inoculated intranasally, %75 of animals inoculated intratracheally and %17 of animals inoculated intravenously.

The histological lesions of the rabbits revealed severe fibrinopurulent and necrotic pneumoni, fibrinopurulent pleuritis and fibrinopurulent pericarditis.

Pasteurella multocida were showed electron microscopically in alveolar spaces, in phagocytic vacuoles of cytoplasm of neutrophilic granulosit in alveolar spaces and in alveolar capillary lumens.

Key Word: Electron microscopy, *Pasteurella multocida*,

Pasteurellosis, Rabbit

KAYNAKLAR

- AKAY, Ö., ARDA, M., ÜNSÜREN, H. (1987). Pneumonia in a cat caused by *Pasteurella multocida*. *AÜ Vet. Fak. Derg.*, **33**: 193-197.
- ALEXANDER, M.M., SAWIN, P.B., ROEHM, D.A. (1952). Respiratory infection in the rabbit: An enzootic caused by *Pasteurella lepusseptica* and attempts to control it by vaccination. *J. Infect. Dis.*, **90**: 30-33.
- ANDERSON, L.C., RUSH, H.G., GLORIOSO, J.C. (1984). Strain differences in the susceptibility and resistance of *Pasteurella multocida* to phagocytosis and killing by rabbit polymorphonuclear neutrophils. *Am. J. Vet. Res.*, **45**: 1193-1198.
- ARDA, M., MİNBAY, A., LELOĞLU, N., AYDIN, N., KAHRAMAN, M., AKAY, Ö., ILGAZ, A., İZGÜR, M., DİKER, K.S. (1997). *Özel Mikrobiyoloji*. 4. Baskı. Medisan Yay., s. 67-74.
- AYDIN, N. (1980). Tavşanlardan izole edilen *Pasteurella multocida* suşlarının serotipleri ve etkili bir aşı hazırlanması üzerinde araştırmalar. *AÜ Vet. Fak. Derg.*, **27**:143-167.
- AYDIN, N. (1988). Bir hindide saptanan pastörellozis olgusu üzerinde etiyolojik inceleme. *Etlik Vet. Mikrobiol. Derg.*, **6**: 109-116.
- BERTRAM, T.A. (1986). Intravascular macrophages in lungs of pigs infected with *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Vet. Pathol.*, **23**: 681-691.
- BRENNER, D.J. (1984). Genus I Pasteurellaceae. (Carter G.R. 1954) In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Eds. Krieg, N.R., Holt, J.G., Baltimore-London, Vol. 1. pp. 550-558.
- BROGDEN, K.A. (1980). Physiological and serological characteristics of 48 *Pasteurella multocida* cultures from rabbits. *J. Clin. Microb.*, **11**: 646-649. "Alınmıştır"
- DILLEHAY, D.L., PAUL, K.S., DIGIACOMO, R.F., CHENGAPPA, M.M. (1990). Pathogenicity of *Pasteurella multocida* A:3 in Flemish Giant and New Zealand White rabbits. *Lab. Anim.*, **25**:337-341.
- CARTER, G.R. (1955). Studies on *Pasteurella multocida*. I. A hemagglutination test for the identification of serological types. *Am. J. Vet. Res.*, **16**: 481-484.
- CARTER, G.R., RUNDELL, S.W. (1965). Identification of type A strain of *Pasteurella multocida* using staphylococcal hyaluronidase. *Vet. Res.*, **96**:343.
- CARTER, G.R., SUBRANTO, P. (1967). Pasteurellosis: *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica*. In *Advanc. Vet. Sci.* **11**:321-379. Eds. Brandley, C.A. and Cornelius C. Academic Press Inc. New York. "Alınmıştır"
- DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- CARTER, G.R., SUBRANTO, P. (1973). Identification of type D strain of *Pasteurella multocida* with acriflavine. *Am. J. Vet. Res.*, **34**: 293-294.

- CHENGAPPA, M.M., MYERS, R.C., CARTER, G.R. (1982). Capsular and somatic type of *Pasteurella multocida* from rabbits. *Can. J. Comp. Med.*, **46**:437-439. "Alınmıştır"
- DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- CHRISP, C.E., FOGED, N.T. (1991). Induction of pneumonia in rabbits by use of a purified protein toxin from *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.*, **52**: 5661.
- COLLINS, F.M. (1977). Mechanisms of acquired resistance to *Pasteurella multocida* infection: a review. *Cornell Vet.*, **67**:103-138.
- CORBEIL, L.B., STRAYER, D.S., SKALETISKY, E., WUNDERLICH, A. SELL, S. (1983). Immunity to pasteurellosis in compromised rabbits. *Am. J. Vet. Res.*, **44**: 845-850.
- DAVIS, D.J. (1913). Bacillus from spontaneous abscesses in rabbits and its relationship to the influenza bacillus. *J. Infect. Dis.*, **12**:42-51. "Alınmıştır"
- DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- DAVIS, D.J. (1917). Observations on subcutaneous abscesses in rabbits. The carrier state and its relation to rabbit septicemia. *J. Infect. Dis.*, **21**:314-321. "Alınmıştır"
- DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- DEEB, B.J., DIGIACOMO, R.F., BERNARD, B.L., SILBERNAGEL, S.M. (1990). *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* infections in rabbits. *J. Clin. Microbiol.*, **28**: 70-75.
- DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Diseases, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- DELONG, D., MANNING, P.J., GUNTHER, R., SWANSON, D.L. (1992). Colonisation of rabbits by *Pasteurella multocida*: serum IgG responses following intranasal challenge with serologically distinct isolates. *Lab. Anim. Sci.*, **42**:13-18.
- DIGIACOMO, R.F., DEEB, B.J., BERNARD, B.L., KLAASSEN, J.M., CHENGAPPA, M.M. (1987a). Safety and efficacy of a streptomycin dependent live *Pasteurella multocida* vaccine in rabbits. *Lab. Anim. Sci.*, **37**:187-190.
- DIGIACOMO, R.F., DEEB, B.J., GIDDENS, W.E., BERNARD, B.L., CHENGAPPA, M.M. (1989). Atrophic rhinitis in New Zealand White rabbits infected with *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.*, **50**:1460-1465.
- DIGIACOMO, R.F., GARLINGHOUSE, L.E. JR., HOOSIER, G.L. VAN JR. (1983). Natural history of infection with *Pasteurella multocida* in rabbits. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **183**: 1172-1175.
- DIGIACOMO, R.F., JONES, C.D.R., WATHES, C.M. (1987b). Transmission of *Pasteurella multocida* in rabbits. *Lab. Anim. Sci.*, **37**:621-623.

- DIGIACOMO, R.F., XU, Y., ALLEN, V., HINTON M.H., PEARSON, G.R. (1991). Naturally acquired *Pasteurella multocida* infection in rabbits: Clinicopathological aspects. *Can. J. Vet. Res.*, **55**:234-238.
- DİKER, K.S., AKAN, M., HAZIROĞLU, R. (1994). Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic ovine lungs. *Vet. Rec.*, **134**: 597-598.
- DILLEHAY, D.L., PAUL, K.S., DIGIACOMO, R.F., CHENGAPPA, M.M. (1990). Pathogenicity of *Pasteurella multocida* A:3 in Flemish Giant and New Zealand White rabbits. *Lab. Anim.*, **25**:337-341.
- FAO (1982). Rapport de la consultation FAO d'experts sur l'aviculture et la cuniculture rurales. 30 Novembre 3 de Decembre 1981, Rome, Italie. "Alınmıştır" RODENDO, E., RONCERO, V., MASOT, A.J., DURAN E., GAZQUEZ, A. (1990). Experimental rabbit pneumonic pasteurellosis: an ultrastructural and morphometric study. *Acta Med. Vet.*, **36**:3-20.
- FLATT, R.E. (1974). *Bacterial Diseases*. pp.194-205 In: Weisbroth, S.H., Flatt, R.E., Kraus, A.L. (ed.), Academic Press, Inc., New York.
- FLATT, R.E., DUNGWORTH, D.L. (1971a). Enzootic pneumonia in rabbits: Naturally occurring lesions in lungs of apparently healthy young rabbits. *Am. J. Vet. Res.*, **32**:321-326.
- FLATT, R.E., DUNGWORTH, D.L. (1971b). Enzootic pneumonia in rabbits: Microbiology and comparison with lesions experimentally produced by *Pasteurella multocida* and a Chlamydial organism. *Am. J. Vet. Res.*, **32**: 627-637.
- FOX, R.R., NORBERG, R.F., MYERS, D.D. (1971). The relationship of *Pasteurella multocida* to otitis media in the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Lab. Anim. Sci.*, **21**:45-48. "Alınmıştır" DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- GLASS, L.S., BEASLEY, J.N. (1989). Infection with and antibody response to *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* in immature rabbits. *Lab. Anim. Sci.*, **39**: 406-410. "Alınmıştır" DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- GLAVITS, R., MAGYAR, T. (1990). The pathology of respiratory infection with *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* in rabbits. *Acta Vet. Hung.* **38**: 211-215.
- GLORIOSO, J.C., JONES, G.W., RUSH, H.G., PENTLER, L.J., DARIF, C.A., COWARD, J.E. (1982). Adhesion of type A *Pasteurella multocida* to rabbit pharyngeal cell and its possible role in rabbit respiratory tract infections. *Infect. Immun.*, **35**:1103-1109.

- GLORIOSO, J.C., JONES, G.W., RUSH, H.G., PENTLER, L.J., DARIF, C.A., COWARD, J.E. (1984). Adhesion of type:A *Pasteurella multocida* to rabbit pharyngeal cells and its possible role in rabbits in Canada. *Can. J. Comp. Med.*, **48**: 162-165. "Alınmıştır"
- PERCY, D.H., BHASIN, J.L. AND ROSENDAL, S. (1986). Experimental pneumonia in rabbits inoculated with strains of *Pasteurella multocida*. *Can. J. Vet. Res.*, **50**:36-41.
- GRIFFIN, C.A. (1952). Respiratory infection among rabbits. *Proc. Anim. Care Panel*, 3:3-13. "Alınmıştır"
- DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- HAGEN, K.W. (1958). Enzootic pasteurellosis in domestic rabbits. I. Pathology and bacteriology. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **133**:77-80.
- HAZIROĞLU, R., DİKER, K.S., GÜLBAHAR, M.Y., AKAN, M., GÜVENÇ, T. (1994). Study of the pathology and microbiology pneumonic lungs of lambs. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.*, **101**: 421-452.
- HAZIROĞLU, R., DİKER, K.S., TÜR KARSLAN, J., GÜLBAHAR, M.Y. (1996). Detection of *Mycoplasma ovipneumonia* and *Pasteurella haemolytica* antigens by an immunoperoxidase technique in pneumonic ovine lungs. *Vet. Pathol.*, **33**: 74-76.
- HEDDLESTON K.L. (1976). Physiologic characteristics of 1,268 cultures of *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.*, **37**:745-747
- HEDDLESTON, K.L., GALLAGHER, J.E., RABERS, P.A. (1972). Fowl cholera: Gel Diffusion Precipitin Test for serotyping *Pasteurella multocida* from avian species. *Avian Dis.*, **16**:925-936. "Alınmıştır"
- DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- HOFFING, G.L., RUSH, H.G., PETKUS, A.R., GLORIOSO, J.C. (1979). In vitro killing of *Pasteurella multocida*: The effect of rabbit granulocyte and specific antibody source. *Am. J. Vet. Res.*, **40**: 679-683.
- HOLMES, H.T., PATTON, N.M., CHEEKE, P.R. (1983a). Pasteurella contaminated watering valves: its incidence and implication. *J. Appl. Rab. Res.*, **6**:123-127. "Alınmıştır"
- JONES, J.M. (1988). An update of rabbit diseases. Part 1: Respiratory disease. *N. Z. Vet. J.*, **36**: 66-69.
- HOLMES, H.T., PATTON, N.M., CHEEKE, P.R. (1983b). The incidence of vaginal and nasal *Pasteurella multocida* in a commercial rabbitry. *J. Appl. Rab. Res.*, **6**:95-101. "Alınmıştır"
- Vet. Bul. **53**: 2317, 1983.
- HOLMES, H.T., MATSUMOTO, M., PATTON, N.M., ZEHFUS, B.R. (1986). Serologic methods for detection of *Pasteurella multocida* infections in nasal culture negative rabbits. *Lab. Anim. Sci.*, **36**: 640-645.
- JONES, J.M. (1988). An update of rabbit diseases. Part 1: Respiratory disease. *N. Z. Vet. J.*, **36**: 66-69.

- JONES, J.M., CARRINGTON, S.D. (1988). *Pasteurella dacryocystitis* in rabbits. *Vet. Rec.*, 122:514-515. "Alınmıştır" DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- JUBB, K.V.F., KENNEDY, P.C., PALMER, N. (1993). *Pathology of Domestic Animals*, Fourth ed., Vol. 2, pp. 632-637. Academic Press, Inc., Orlando, Florida.
- KARNOVSKY, M.J. (1965). Paraformaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 27:137A-138A.
- KLUGER, M.J., VAUGHN, L.K. (1978). Fever and survival in rabbits infected with *Pasteurella multocida*. *J. Physiol.*, 282:243-251.
- KPODEKON, M. (1983). Pathologie et pathogenie des complications auriculaires et encephaliques de la pasteurellose du lapin d'elevage. *Ann. Rech. Vet.*, 14:225-232. "Alınmıştır" RODENDO, E., RONCERO, V., MASOT, A.J., DURAN E., GAZQUEZ, A. (1990). Experimental rabbit pneumonic pasteurellosis: an ultrastructural and morphometric study. *Acta Med. Vet.*, 36:3-20.
- KPODEKON, M., RIDEAUD, P., COUDERT, P. (1999). Pasteurelloses du lapin : revue. *Revue. Med. Vet.*, 150: 221-232.
- KUNSTYR, I., NAUMANN, S. (1985). Head tilt in rabbits caused by pasteurellosis and encephalitozoonosis. *Lab. Anim.*, 19: 208-213.
- LELKES, L., CORBETT, M. J. (1983). A preliminary study of the transmission of *Pasteurella multocida* in rabbits. *J. Appl. Rab. Res.*, 6: 125-126.
- LIENENBERG, S.P., BADGER, V.M. (1984). Suppurative osteomyelitis in the foot a rabbit. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 185:1382.
- LU, Y.S., PAKES, S.P. (1981). Protection of rabbits against experimental pasteurellosis by a streptomycin dependent live *Pasteurella multocida* vaccine for the prevention of rabbit pasteurellosis. *Lab Anim Sci.*, 30:515-518. "Alınmıştır" DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- LU, Y.S., PAKES, S.P., MASSEY, L. (1987). Hyperimmune serum from rabbits immunized with potassium thiocyanate extract of *Pasteurella multocida* protects against homologous challenge. *J. Clin. Microbiol.*, 25:2173-2180.
- LU, Y.S., PAKES, S.P., STEFANU, C. (1983). Capsular and somatic serotypes of *Pasteurella multocida* isolates recovered from healthy and diseased rabbits in Texas. *J. Clin. Microbiol.*, 18:292-295.
- LU, Y.S., RINGLER, D.H., PARK, J.S. (1978). Characterization of *Pasteurella multocida* isolates from the nares of healthy rabbits and rabbits with pneumonia. *Lab. Anim. Sci.*, 28:691-697. "Alınmıştır" DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. Second edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.

- LUNA, L.G. (1968). *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. Third ed., McGraw-Hill, New York.
- MANNING, P.J., DIGIACOMO, R.F., DELONG, D. (1989). Pasteurellosis in Laboratory Animals. In *Pasteurella and Pasteurellosis*. New York, NY: Academic Press, Inc. pp 265-302. "Alınmıştır"
- DILLEHAY, D.L., PAUL, K.S., DIGIACOMO, R.F., CHENGAPPA, M.M. (1990). Pathogenicity of *Pasteurella multocida* A:3 in Flemish Giant and New Zealand White rabbits. *Lab. Anim.*, **25**:337-341.
- MARKHAM, R.J.F., WILKIE, B.N. (1980). Interaction between *Pasteurella haemolytica* and bovine alveolar macrophages: Cytotoxic effect on macrophages and impaired phagocytosis. *Am. J. Vet. Res.*, **41**:18-22.
- MCKENNEDY, F.D., SHILLINGER, J.E. (1938). Transmission of *Pasteurella cuniculicida* in rabbits by breeding. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **93**:161-164.
- MİLLİ, Ü.H., BERKİN, Ş., AKAY, Ö. (1987). Kuzularda *Pasteurella multocida*'dan ileri gelen hemorajik sepsisemi. *AÜ Vet. Fak. Derg.*, **33**: 309-317.
- NAIR M.G., JAYAKUMAR, P.M., NAIR, N.D., VALSALA, K.V. (1987). Pathology of pasteurella pneumonia in rabbits. *Kerala J. Vet. Sci.* **18**: 59-64.
- NAKAGAWA, M., NAKAYAMA, K., SAITO, M., TAKAYAMA, S., WATARAI, S. (1986). Bacteriological and serological studies on *Pasteurella multocida* infections in rabbits. *Exp. Anim.*, **35**: 463-469.
- OSTLER, D.C. (1961). The disease of broiler rabbits. *Vet. Rec.*, **73**: 1237-1253.
- PACE, L.W., TURK, J.R., CORSTVET, R.E., ENRIGHT, F.M., HENK, W. (1994). Induction of acut bronchopneumonia in mice by intrabronchial inoculation of *Pasteurella haemolytica* serotype1. *Can. J. Vet. Res.*, **58**: 79-82.
- PERCY, D.H., BHASIN, J.L., ROSENDAL, S. (1986). Experimental pneumonia in rabbits inoculated with strains of *Pasteurella multocida*. *Can. J. Vet. Res.*, **50**:36-41.
- REDONDO, E., RONCERO, V., MASOT, A.J., DURAN E., GAZQUEZ, A. (1990). Experimental rabbit pneumonic pasteurellosis: an ultrastructural and morphometric study. *Acta Med. Vet.*, **36**:3-20.
- RUSH, H.G., GLORIOSO, J.C., DARIF, C.A. (1981). Resistance of *Pasteurella multocida* to rabbit neutrophil phagocytosis and killing. *Am. J. Vet. Res.*, **42**:1760-1768.
- SLOCOMBE, R.F., DERKSEN, F.J., ROBINSON, N.E., TRAPP, A., GUPTA, A., NEWMAN, J.P. (1984). Interaction of cold stress and *Pasteurella haemolytica* in the pathogenesis of pneumonic pasteurellosis in calves: Method of induction and hematologic and pathologic changes. *Am. J. Vet. Res.*, **45**: 1757-1763.
- SMITH, D.T., WEBSTER, L.T. (1925). Epidemiological studies on respiratory infections of the rabbit. VI. Etiology of otitis media. *J. Exp. Med.*, **41**:275-283.
- SOKKAR, S.M., MOHAMMED, M.A., FETAIH, H. (1987). Pathogenesis of *Pasteurella multocida* in experimentally infected rabbits. *Arch. Exp. Vet. Med.*, **41**:516-521.

- THOMAS, L.H., GOURLAY, R.N., WYLD, S.G., PARSONS, K.R., CHANTER, N. (1989). Evidence that blood-borne infection is involved in the pathogenesis of bovine pneumonic pasteurellosis. *Vet. Pathol.*, 26:253-259.
- VAUGHN, L.K., VEALE, W.L., COOPER, K.E. (1981). Effects of antipyresis on bacterial numbers in infected rabbits. *Brain. Res. Bull.*, 7:175-180. "Alınmıştır" DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- VENABLE, J.H., COGGESHALL, R.A. (1965). A simplified lead citrate stain for in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 25:407-408.
- WEBSTER, L.T. (1924a). The epidemiology of a rabbit respiratory infections. I. introduction, *J. Exp. Med.*, 39: 837-841.
- WEBSTER, L.T. (1924b). The epidemiology of a rabbit respiratory infection. II. clinical, pathological and bacteriological study of snuffles. *J. Exp. Med.*, 39: 843-856.
- WEBSTER, L.T. (1924c). The epidemiology of a rabbit respiratory infection. III. Nasal flora of laboratory rabbits. *J. Exp. Med.*, 39: 857-877.
- WEBSTER, L.T. (1924d). The epidemiology of a rabbit respiratory infection. IV. Susceptibility of rabbits to spontaneous suffles. *J. Exp. Med.*, 39:109-115.
- WEBSTER, L.T. (1924e). The epidemiology of a rabbit respiratory infection. V. Experimental snuffles. *J. Exp. Med.*, 39: 117-127.
- WEBSTER L.T. (1925). Epidemiological studies on respiratory infections of the rabbit. VII. Pneumonia associated with *Bacterium lepi-septicum*. *J. Exp. Med.*, 43: 555-572.
- WEBSTER, L.T. (1926). Epidemiological study on respiratory infection of the rabbit. VIII. Carrier of *Bacterium lepi-septicum*. *J. Exp. Med.*, 43:573-590. "Alınmıştır" DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- WEBSTER L.T. (1927). Epidemiological studies on respiratory infections of the rabbit. IX. The spread of *Bacterium lepi-septicum* infection at a rabbit farm in New York City, NY. *J. Exp. Med.*, 45: 529-551. "Alınmıştır" DILLEHAY, D.L., PAUL, K.S., DIGIACOMO, R.F., CHENGAPPA, M.M. (1990). Pathogenicity of *Pasteurella multocida* A:3 in Flemish Giant and New Zealand White rabbits. *Lab. Anim.*, 25:337-341.
- WEBSTER, L.T., BURN, C. (1927). *Bacterium lepi-septicum* infection. Its mode of spread and control. *J. Exp. Med.*, 45:911-935. "Alınmıştır" DELONG, D., MANNING, P.J. (1994). Bacterial Disease, pp. 131-170. In Manning P.J., Ringler, D.H. Newcomer, C.E. *The Biology of Laboratory Rabbit*. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
- WHITELEY, L.O., MAHESWARAN, S.K., WEISS, D.J., AMES, T.R. (1991). Alteration in pulmonary morphology and peripheral coagulation profiles caused by intratracheal inoculation of live and ultraviolet light-killed *Pasteurella haemolytica* A1 in calves. *Vet. Pathol.*, 28:275-285.