

KUZULARDA PASTEURELLA MULTOCIDA'DAN İLERİ GELEN
HEMORAJİK SEPTİSEMİ

Ümit H.Milli¹

Şenay Berkin²

Ömer Akay³

Hemorrhagic septicemia due to *Pasteurella multocida* in lambs

Summary: Hemorrhagic septicemia was diagnosed in 5 of 25 lambs, approximately six-month old, used in a parasitological experiment. The organs of four lambs were examined bacteriologically. In mouse pathogenicity test, mice were each given 0.1 ml ip of a 24 hour broth culture and most deaths occurred within 18 hours of inoculation; the lesions were those of septicemia with enlarged spleen and liver. The four isolated strains were identified as *Pasteurella multocida* on their cultural, biochemical and pathogenic properties. The agent was also isolated from the lungs of a lamb dead from another cause. Macroscopical findings seen in the lambs were as follows; subcutaneous, subendocardial, subepicardial, pleural and peritoneal petechial and ecchymotic hemorrhages, enlargement of lymph nodes and hemorrhagic appearance of their cut surfaces and hemorrhages and ulcers in abomasum and intestines. Microscopically, the most prominent lesion was widespread bacterial emboli in liver, lungs, lymph nodes, spleen and kidneys. There was lack of inflammatory reaction around the bacterial emboli.

Özet: Parazitolojik çalışmalarda kullanılan yaklaşık 6 aylık 25 kuzudan 5'inde *Pasteurella multocida*'nın yol açtığı hemorrhagic septicemie saptanmıştır. İzole edilen suşların farelerde patojenitesini saptamak amacıyla suşların 24 saatlik buyyon kültürlerinden 0.1 ml hayvanlara ip yolla verilmiş ve farelerin inokülasyonu takiben 18 saat içinde öldükleri saptanmıştır. Ölen hayvanların otopsisinde dalak ve karaciğerde büyüme ve septisemi belirtileri gözlenmiştir. Başka bir nedenle ölen bir kuzunun akciğerinden de *Pasteurella multocida* izole edilmiştir. Kuzularda görülen makroskopik bulgular subkutan, subendocardial, subepi-

1 Yrd.Doç.Dr., A.Ü. Vet. Fak. Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

2 Doç.Dr., A.Ü. Vet. Fak. Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

3 Doç.Dr., A.Ü. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

cardial, pleural ve peritoneal peteşiyal ve ekimotik kanamalar, lenf düğümlerinde büyüme ve kesit yüzlerinde hemorajik görünüş, abomasum ve ince barsaklarda kanama ve ülserlerdi. Histopatolojik olarak gözlenen en belirgin bulgu karaciğer, akciğer, lenf düğümleri, dalak ve böbreklerde yaygın bakteri embolusları idi. Bu bakteri embolusları çevresinde yangısal bir reaksiyon şekillenmemişti.

Giriş

Koyunlarda pastörellozis, pnömoni ve hemorajik septisemi olmak üzere iki formda görülür. Hemorajik septisemik form özellikle kuzularda ortaya çıkar (5). Bu gibi olaylardan izole edilen etken hemen daima *Pasteurella hemolytica*'dır (1, 12-15). *Pasteurella multocida*'nın koyunlarda yaygın bir patojen olmadığı bildirilmiştir (3). Buna karşılık, sığırların hemorajik septisemisinden sorumlu etkindir (5). Septisemik pastörelloziste makro lezyonlar, serozalarda peteşiyal kanamalar, akciğerlerde ödem, lenf düğümlerinde büyüme, abomasum ve ince barsaklarda kanama ve ülserlerdir. Mikroskopik olarak, başta akciğerler ve karaciğer olmak üzere iç organlarda çevrelerinde yangısal reaksiyon görülmeyen bakteri kolonileri karakteristik bir bulgudur (1,2,7,15,16).

Pasteurella multocida'nın kuzularda ender olarak hemorajik septisemiye yol açması (9), ayrıca sunulan bu çalışmada saptanan patolojik tablonun gerek sığırlardaki (5) ve gerekse *Pasteurella hemolytica*'nın kuzularda yol açtığı septisemik hastalık tablosuyla benzerlik göstermesi nedeniyle, bu gözlemlerin yayımlanması uygun görülmüştür.

Materyal ve Metot

Patolojik materyal; Ankara Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında yapılmakta olan bir araştırmada kullanılan 25 adet, yaklaşık 6 aylık erkek kuzudan ölen 6 tanesinin otopsileri Patoloji Anabilim Dalında yapılmıştır. Ölümler Ekim ve Kasım aylarında görülmüştür. Alınan bilgilere göre, *Fasciola gigantica*'ya karşı *Cysticercus tenuicollis* enfeksiyonu ile direncin uyarılması üzerinde araştırmalarda kullanılan bu kuzulara önce *Taenia hydatigena* yumurtaları verilmiş, ölümlerinden 1 hafta önce de 7 gün süreyle günde iki kez 50 mg / kg dozunda mebendazol uygulaması yapılmıştır. Ölen hayvan-

larda klinik bulgu olarak ishal, iştahsızlık ve depresyon dikkati çekmiştir. Ölen kuzuların sistematik otopsileri yapıldıktan sonra iç organlar % 10 buffer'lı formolde tespit edilerek, parafin bloklardan hazırlanan kesitler hematoksilen-cozün ve Gram ile boyanmıştır.

Besi yerleri; Kuzulara ait organlardan etken izolasyonu, izole edilen mikroorganizmanın identifikasyonu amacıyla kanlı agar, nutrient buyyon, üre besi yeri, şeker fermentasyon ortamı, MacConkey agar gibi besi yerlerinden yararlanılmıştır.

Deneme hayvanları; İzole edilen etkenlerin patojenitelerini saptamak için kullanılan fareler Ankara Veteriner Fakültesi Bakterioloji Bilim Dalı Deneme Hayvanları Ünitesinden sağlanmıştır.

İzolasyon ve identifikasyon çalışmaları; Kuzulara ait iç organlardan (karaciğer, dalak ve akciğer) sürme preparatlar hazırlanarak, Giemsa ve Gram boyama yöntemleri ile boyanmıştır. Ayrıca, bu organlardan kanlı agar ortamına ekimler yapılarak, besi yerleri 37°C de 48 saat inkübe edilmiş ve üreyen kolonilerin aşağıda belirtildiği şekilde Pasteurella multocida yönünden identifikasyonları gerçekleştirilmiştir.

1. *Biyokimyasal testler;* H₂S, laktoz, mannitol, üre, indol testleri yapılmıştır (8).

2. Etkenin kanlı agarda hemoliz oluşturması % 5 defibrine koyun kanlı agarda saptanmıştır. Ayrıca, izolatların MacConkey agarda üreme durumu da incelenmiştir.

3. *Hayvan inokülasyonu;* İzole edilen etkenlerin nutrient buyyondaki bir gecelik kültürlerinden 2'şer fareye 0.1 ml ip verilmiş ve hayvanlar klinik gözlem altına alınmışlardır.

Bulgular

Makroskopik bulgular; Kuzularda göze çarpan en belirgin bulgu yaygın kanamalardır. Subkutan kanamalara boyun, sırt ve sakral bölgelerde rastlandı. Üç kuzuda peteşiyal ve ekimotik kanamalar kalpte subepikardial ve subendokardial olarak görüldü. Aynı hayvanlarda kostaal pleura'da, aorta çevresindeki pleura ve peritonda da kanamalar şekillenmişti.

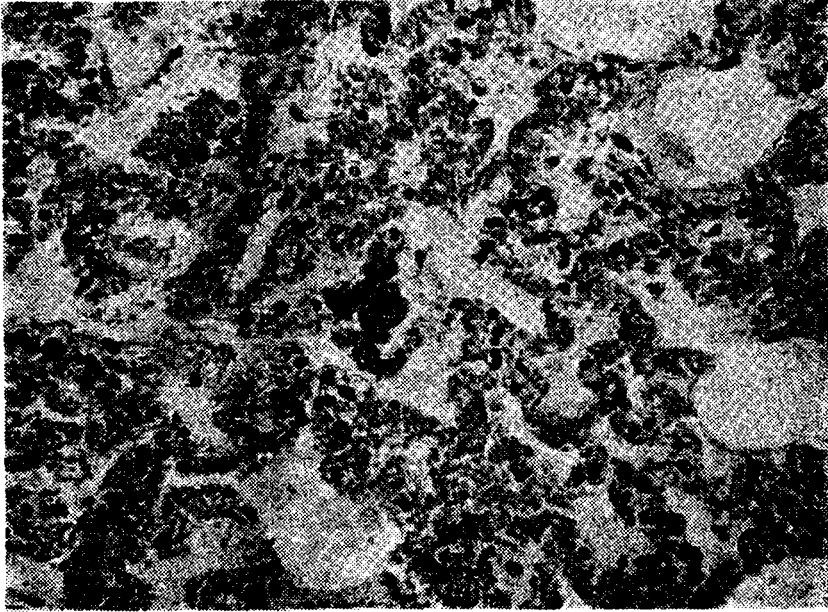
Akciğerler şişkin görünüşte ve konjesyonluydu. Göğüs boşluğu açıldığında akciğerler kollabe olmadılar.

Abomasum mukozasında yaygın kanamalara ve hemorajik ülserlere rastlandı. İnce barsak mukozaları hiperemik ve ödemli olup duodenumda ve kolonda peteşiyal ve linear kanamalar görüldü.

Dalak genellikle hafif büyümüş ve subkapsullar kanamalarla bezeliydi. Lenf düğümleri şişkin, kesit yüzleri kanamalıydı. Retrofaringeal lenf düğümlerindeki lezyonlar diğerlerine oranla daha şiddetli ve belirgindi.

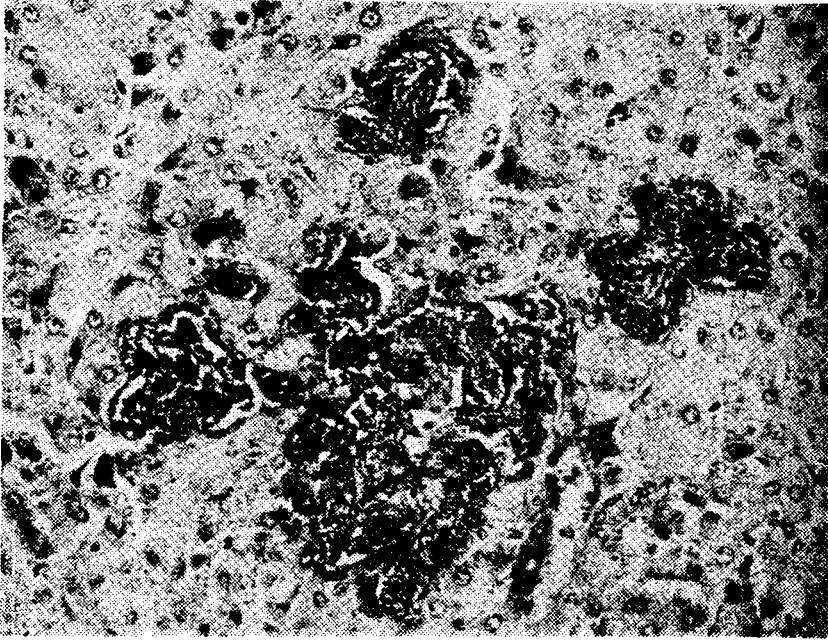
Kuzulardan birinde retrofaringeal ve submandibular lenf düğümlerinde hafif büyüme görüldü. Böbrekler solgun ve hafif sertleşmişti.

Mikroskopik bulgular; Akciğerlerde interalveolar kapillar damarlar oldukça genişlemiş ve içleri eritrositlerle doluydu. Alveol lumenlerinde yaygın şekilde ödem sıvısı görüldü. Yer yer intraalveolar kanamalar dikkati çekti. Akciğer kapillarlarında mikrop embolusları yaygındı. Bu emboluslar çevresinde çoğunlukla hiçbir yangısal reaksiyon şekillenmemişti (Şekil 1). Geniş mikrop kümelerinin olduğu kısımlarda sınırlı nekroz alanlarına rastlandı.



Şekil 1. Akciğerde bakteriyel embolus, konjesyon ve ödem. Hx E x360
(Lung showing bacterial embolus, congestion and oedema)

Karaciğerde de görülen en önemli bulgu yaygın mikrop kümeleri idi (Şekil 2 ve 3). Bakteriyel emboluslar özellikle karaciğer sinüsoidlerine yerleşmişti. Akciğere oranla bakteri kolonileri daha çoktu. Embolusların özellikle perifer lobular lokalizasyonu dikkati çekti. Mikrop emboluslarına karşı yangısal bir reaksiyon şekillenmemişti. Üç kuzuda Vena centralis'ler çevresindeki hepatositlerde çözülme ve yer yer nekroza kadar ilerlemiş dejeneratif değişiklikler vardı.

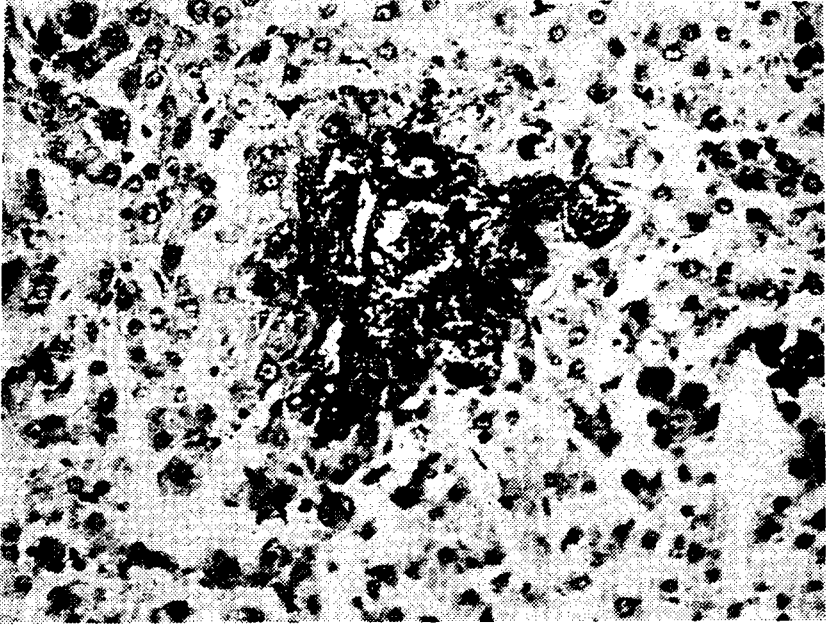


Şekil 2. Karaciğerde bakteri emboluslarının yayılımı. Emboluslar çevresinde herhangi bir yangısal reaksiyonun olmaması dikkati çekmekte. Gram x275

(Dissemination of bacteria in the liver. Notice lack of inflammatory reaction in the surrounding parenchyma. Gram stain)

Lenf düğümleri ödemli ve hiperemikti. Bazı lenf düğümlerinde geniş kortikal kanamalar şekillenmişti. Subkapsullar ve medüller sinüslerde yaygın şekilde mikrop kolonileri görüldü.

Bakteriyel kolonilere ayrıca, dalak, böbrek (Şekil 4) ve bir kuzuda ince barsaklarda da rastlandı. Bu organlardaki koloniler akciğer ve karaciğere oranla daha azdı.



Şekil 3. Karaciğerde bakteriyel embolizm ve hepatositlerde çözülme ve dejeneratif değişiklikler. Gram x400
(Liver showing bacterial embolism. Dissociation and degenerative changes in hepatocytes. Gram stain)

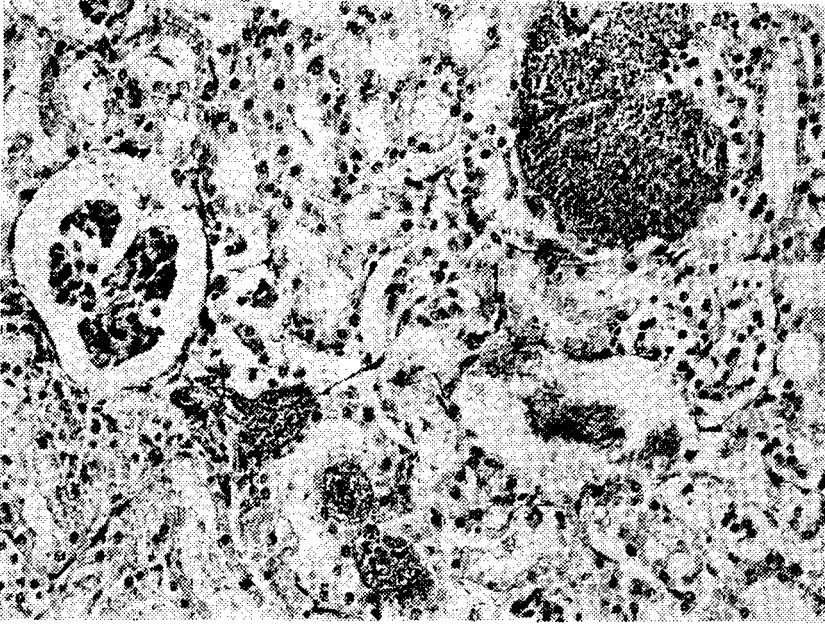
Hemorajik septisemi belirtileri göstermeyen kuzuda ise mikroskopik olarak subakut glomerulonefritis saptandı.

İzolasyon ve identifikasyon çalışma bulguları; Lezyonlu organlardan hazırlanan preparatların Giemsa boyama yöntemiyle boyanması sonucu mikroskopik bakıda çok sayıda bipolar mikroorganizmalar tespit edildi. Ayrıca, organlardan yapılan ekimler sonu 4 suş izole edildi.

1. *Biyokimyasal test sonuçları;* İzole edilen 4 suşun H₂S pozitif, laktoz, mannitol negatif, üre negatif ve indol pozitif oldukları saptandı.

2. Dört suşun % 5 defibrine koyun kanlı agarda hemoliz oluşturmadıkları tespit edildi.

3. Çalışmada kullanılan 4 suş, fareleri 14-18 saat içinde öldürdü. Ölen hayvanların yapılan otopsilerinde septisemi belirtileri ile birlikte karaciğer ve dalağın büyüdüğü dikkati çekti. Farelerin kalp kanı ve



Şekil 4. Böbrekte intertubuler kapillerleri tıkamış bakteri kolonileri. HxE x225
(Bacterial colonization in the intertubular capillaries of the kidney)

karaciğerlerinden yapılan preparatların Giemsa ile boyanması sonu sahada bol miktarda bipolar etkenler gözlemlendi. Ayrıca, ölen hayvanların kalp kanı ve karaciğerlerinden kanlı agara ekim sonu etken saf olarak izole edildi.

İzole edilen 4 suş morfolojik, kültürel, biyokimyasal ve hayvan deneyi sonuçlarına dayanarak *Pasteurella multocida* olarak tanımlandı.

Tartışma ve Sonuç

Koyunlarda septisemik pasteurellosis salgınlarının ortaya çıkışı çeşitli faktörlerin etkisiyle kolaylaşmaktadır. Bu faktörler arasında sütten kesilme, uzun ve yorucu taşımalar, aşılama, yem değişiklikleri, havalandırılması iyi olmayan ahırlarda barındırma, iklim değişiklikleri, kötü beslenme ve şiddetli parasitismus durumları bildirilmiştir (5,16). Septisemik pasteurellosis'in görülüşü mevsimsel olup en yüksek düzeyini sonbaharda bulmaktadır (5). Bu çalışmadaki kuzuların de-

neysel olarak paraziter enfeksiyona maruz bırakılmalarının hastalığın çıkışına yardımcı olduğunu söylemek zordur. Hastalığın Ekim ve Kasım aylarında görülmesi ise pasteurellosis'in mevsimsel ortaya çıkışını destekler niteliktedir.

Pasteurellosis'in ortaya çıkışında taşıyıcı hayvanların önemi üzerinde durulmuştur. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda sağlıklı koyunların nazofaringeal bölgelerinden sık sık etken izolasyonları yapılmıştır (3,4,6,10,11). Konakçı duyarlılığında veya bakteri patojenitesindeki değişiklikler nedeniyle etkenlerin lenfatik sistemle kan dolaşımına girmesi sonucu septisemiye yol açtığı ileri sürülmektedir (6). Sunulan bu çalışmada ölüm nedeni subakut glomerulonefritis olan bir kuzunun akciğerlerinden etken izolasyonu, deneme kuzuları arasında taşıyıcı hayvanların bulunabileceğini gösteren bir bulgu olarak düşünülebilir. Yirmibeş kuzuluk deneme grubunda mortalite oranı % 20 olmuştur. Kuzular arasında mortalitenin çoğunlukla % 5 olduğu (1), fakat bu rakamın % 20'ye kadar çıkabileceği de bildirilmiştir (15).

Koyunlarda septisemik pasteurellosis salgınlarından sorumlu olarak *Pasteurella multocida*'nın izolasyonu oldukça enderdir (9). Bu çalışmada, kuzulardan *Pasteurella multocida*'nın izolasyonu, koyunlarda *Pasteurella hemolytica*'ya oranla pek yaygın bulunmayan bu etkenin septisemik pasteurellosis'e yol açabileceğinin yeni bir örneğini oluşturmaktadır. Bununla birlikte, bu çalışmadaki kuzularda gözlenen hastalık tablosunun, *Pasteurella hemolytica*'nın kuzularda (1,2,7,15,16) ve *Pasteurella multocida*'nın sığırlarda (5) yol açtığı hemorajik septisemi tablosundan bir farkı bulunmamaktadır. Mikroskopik olarak başta karaciğer ve akciğer olmak üzere iç organlarda yaygın bakteriyel embolusların bulunuşu, diğer araştırmacılarca (15,16) da vurgulanan karakteristik bir bulgu olarak görülmüştür. Ayrıca, bu bakteri kolonileri çevresinde herhangi bir yangısal reaksiyonun bulunmayışı da, hastalığın akut seyri için bir göstergesidir.

Sonuç olarak, çoğunlukla sığırlarda hemorajik septisemiye yol açan *Pasteurella multocida*'nın kuzularda da aynı hastalık tablosunu oluşturabileceği gözönünde bulundurulmalıdır.

Kaynaklar

1. Biberstein, E.L. and Kennedy, P.C. (1959). *Septicemic pasteurellosis in lambs*. Amer. J. Vet. Res., 20: 94-101.

2. Biberstein, E.L., McKercher, D.G. and Wada, E.M. (1959). *A review of recent findings in infectious diseases of sheep. II. Bacterial diseases.* J. Amer. Vet. Med. Assn., 135: 61-67.
3. Biberstein, E.L., Shreeve, B.J. and Thompson, D.A. (1970). *Variation in carrier rates of Pasteurella haemolytica in sheep flocks. I. Normal flocks.* J. Comp. Path., 80: 499-507.
4. Biberstein, E.L. and Thompson, D.A. (1966). *Epidemiological studies on Pasteurella haemolytica in sheep.* J. Comp. Path., 76: 83-94.
5. Carter, G.R. (1967). *Pasteurellosis: Pasteurella multocida and Pasteurella hemolytica.* Adv. Vet. Sci., 11: 321-379.
6. Gilmour, N.J.L., Thompson, D.A. and Fraser, J. (1974). *The recovery of Pasteurella haemolytica from the tonsils of adult sheep.* Res. Vet. Sci., 17: 413-414.
7. Harris, G. (1974). *An outbreak of pasteurellosis in lambs.* Vet. Rec., 94: 84-85.
8. Koneman, E.W., Allen, S.P., Dowell, V.R. and Sommers, H.M. (1979). "Diagnostic Microbiology". J.B. Lippincott Company, Philadelphia, Toronto.
9. Marsh, H. (1953). *The role of Pasteurella in sheep diseases.* J. Amer. Vet. Med. Assn., 123: 205-208.
10. Shreeve, B.J., Biberstein, E.L. and Thompson, D.A. (1972). *Variation in carrier rates of Pasteurella hemolytica in sheep. II. Diseased flocks.* J. Comp. Path., 82: 111-116.
11. Shreeve, B.J. and Thompson, D.A. (1970). *Studies on the carriage of Pasteurella haemolytica in lambs.* J. Comp. Path., 80: 107-112.
12. Smith, G.R. (1960). *The pathogenicity of Pasteurella haemolytica for young lambs.* J. Comp. Path. Therap., 70: 326-338.
13. Smith, G.R. (1960). *Virulence and toxicity of Pasteurella haemolytica in the experimental production of ovine septicemia.* J. Comp. Path. Therap., 70: 429-436.
14. Smith, G.R. (1961). *Further observations on the pathogenicity of Pasteurella haemolytica for young lambs.* J. Comp. Path. Therap., 71: 94-99.
15. Stamp, J.T., Watt, J.A.A. and Thomplinson, J.R. (1955). *Pasteurella haemolytica septicaemia of lambs.* J. Comp. Path. Therap., 65: 183-196.
16. Suarez-Güemes, F., Collins, M.T. and Whiteman, C.E. (1985). *Experimental reproduction of septicemic pasteurellosis in feedlot lambs: Bacteriologic and pathologic examinations.* Amer. J. Vet. Res., 46: 193-201.