

## Tavşanlarda deneysel pastörelloziste patolojik bulgular\*

Murat YARIM

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Samsun

**Özet:** Bu çalışmada, Yeni Zelanda Beyazı 6-8 haftalık tavşanlara intranasal, intratraheal ve intravenöz olarak tavşan orijini *Pasteurella multocida* 3:A serotipi inoküle edildi. Hayvanlar inokülasyon sonrası 4-6, 8-10 ve 14. günlerde öldü ya da ötanazi uygulandı. Tüm dokular makroskopik ve mikroskopik olarak muayene edildi. Bunlara ilaveten, akciğer lezyonları elektron mikroskopik olarak incelendi. Akciğer lezyonları en fazla intratraheal inokülasyon grubunda, daha az olarak intranasal inokülasyon grubunda ve en az olarak da intravenöz olarak inoküle edilen tavşanlarda görüldü. *Pasteurella multocida* 3:A serotipi inoküle edilmiş tüm gruplarda özellikle aşağı solunum sistemi lezyonları şekillendi. Akciğer ve plöra lezyonları intranasal olarak inoküle edilmiş hayvanların %50'sinde, intratraheal olarak inoküle edilmiş hayvanların %75'inde ve intravenöz olarak inoküle edilmiş hayvanların ise %17'sinde görüldü. Tavşanlarda histolojik olarak şiddetli fibrinopurulent ve nekrotik pnömoni, fibrinopurulent plöritis ve fibrinopurulent perikarditise rastlandı. *Pasteurella multocida* 'lara elektron mikroskopik olarak serbest halde alveol boşluklarında ve fagosite edilmiş halde kapillar lumenlerindeki ve alveol boşluklarındaki nötrofil granülositlerde rastlandı. Sonuç olarak, *Pasteurella multocida* 3:A serotipi tavşanlara hangi yolla inoküle edilirse edilsin pnömoni oluşturulabildiği fakat en etkili yolun intratraheal yol olduğu, bunu sırası ile intranasal ve intravenöz yolun izlediği belirlendi.

**Anahtar sözcükler:** Elektron mikroskopi, *Pasteurella multocida*, pastörellozis, tavşan

### Pathological findings of experimental pasteurellosis in rabbits

**Summary:** In this study, three groups of New Zealand White rabbits, 6-8-week-old, were inoculated with *Pasteurella multocida* serotype 3:A strain of rabbit origin by routes of intranasal, intratracheal and intravenous inoculations, respectively. The animals died or killed after the 4-6, 8-10 and 14 days of observation periods were necropsied. All of tissues were examined macroscopically and microscopically. In addition, pulmonary lesions were examined with electron microscopically. Pneumonic lesions were detected most consistently in rabbits inoculated intratracheally. Intranasal inoculation was less effective than intratracheal inoculation. The lesions were minimal in intravenous dosed group. 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 examinations revealed severe fibrinopurulent and necrotic pneumonia, fibrinopurulent pleuritis and fibrinopurulent pericarditis. *Pasteurella multocida* were shown electron microscopically in free manner in alveolar spaces, in phagocytic vacuoles of cytoplasm of neutrophilic granulocytes in alveolar spaces and in alveolar capillary lumens. As a result, *Pasteurella multocida* 3:A serotype can induce pneumonia in rabbits through different routes of inoculation: intratracheal, intranasal, and intravenous. However, intratracheal inoculation is the most effective method to induce pneumonia while intranasal inoculation is the second most and intravenous inoculation is the least effective.

**Key words:** Electron microscopy, *Pasteurella multocida*, pasteurellosis, rabbit.

### Giriş

Tavşanlarda pastörellozis terimi *Pasteurella multocida* tarafından oluşturulan hastalığı tanımlar. Tavşanlar *Pasteurella multocida* enfeksiyonlarına oldukça duyarlıdır ve hastalığa bağlı olarak rinitis, pnömoni, otitis media ve interna, konjunktivitis, çok sayıda organda apseler, genital sistem enfeksiyonları ve septisemi gibi birçok klinik form gelişir (Flatt, 1974).

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; Hagen, 1958).

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

\* Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir. Tez çalışması için etik kurul onayı alınmıştır. Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından (Proje No: 96-30-00-10) desteklenmiştir.

intratraheal ve intravenöz yollar dikkati çekmektedir (DeLong ve Manning, 1994; Flatt ve Dungworth, 1971b; Glavits ve Magyar, 1990; Percy ve ark., 1986; Sokkar ve ark., 1987).

Redondo ve ark. (1990) *Pasteurella multocida* ile intratraheal yolla enfekte ettikleri 25 tavşanın akciğerlerini morfometrik, histolojik ve ultrastruktural olarak incelemişlerdir. Ultrastruktural değerlendirmede tip I pnömonositlerde belirgin bir değişikliğin olmadığını, tip II pnömonositlerde özellikle lamellar cisimciklerde belirgin değişikliklerin bulunduğunu, 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.

Bu çalışma, farklı inokülasyon yolları kullanılarak oluşturulan tavşan pastörellozisinin patogeneziyle ilgili yeni bilgilerin elde edilmesi, hastalık hakkında daha geniş ve kapsamlı bilgi sahibi olunması ve akciğer lezyonlarına ilişkin literatürdeki elektron mikroskopik bilgilere katkıda bulunulması amacıyla yapıldı.

### Materyal ve Metot

**Deney Hayvanı:** Bu çalışmada, özel bir işletmeden temin edilen 2-2.5 kg ağırlığında, 6-8 haftalık, 42 adet Yeni Zelanda ırkı tavşan kullanıldı. Bunların 6 adeti kontrol, 36 adeti ise deneme grubunu oluşturdu. Denemelere başlamadan önce hayvanların burun svapları alınarak kanlı agara inoküle edildi. İnkübasyonu takiben üreyen koloniler *Pasteurella multocida* yönünden biyokimyasal testlere tabi tutuldu. Çalışma süresince tüm tavşanlar ayrı kafeslerde tutuldu ve *ad libitum* olarak beslendi.

**Suşun karakterizasyonu:** Dr. Richard RIMLER (Midwest Area National Animal Disease Center, Ames, Iowa, ABD) 'den temin edilen tavşan orijinli *Pasteurella multocida* 3:A serotipi laboratuvarında kültürel, morfolojik ve biyokimyasal özellikleri incelenerek karakterize edildi. Suşun karakterizasyonu, inokulumun hazırlanması ve mikrobiyolojik incelemeler Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

**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. İntranazal inokülasyon grubundaki deneme tavşanlarının her bir burun deliğine iğnesiz enjektör yardımı ile  $0.5 \times 10^8$  CFU/ml dozunda 0.5'er ml bakteri süspansiyonu damlatılarak inokülasyon yapıldı. Kontrollerin burun deliklerine ise aynı miktarda serum fizyolojik damlatıldı. İntratraheal inokülasyon grubundaki 12 adet deneme tavşanının Rompun-Ketalar anestezisi altında boyun altı bölgesinin traş ve dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra 0.5

cm uzunluğunda ensize edildi. Bu bölgedeki trahea halkaları arasına bir ensizyon daha yapıldı. Plastik tüp traheanın bifurkasyon noktasına kadar ilerletilerek  $0.5 \times 10^8$  CFU/ml dozunda 0.5 ml bakteri süspansiyonu inoküle edildi. Bu gruptaki 2 adet kontrol tavşanına ise yine aynı yol ile 0.5 ml serum fizyolojik verildi. İntravenöz inokülasyon grubundaki 12 adet deneme tavşanının kulak venasına  $0.5 \times 10^7$  CFU/ml dozunda 0.5 ml bakteri süspansiyonu enjekte edildi. Bu gruptaki kontrollere ise aynı yol ile aynı miktarda serum fizyolojik verildi.

**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 intramusküler süksinil kolin (Lysthenon-fort amp., Organon, Teknika) enjekte edilerek ötanazi ile uyutulması ve nekropsilerinin yapılması planlandı.

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

**Histopatolojik inceleme için doku kesitlerinin hazırlanması:** İnokülasyon sonrasında belirlenen 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 tespit edilip 24 saat sonra trimlendi ve postfiksasyonları yapıldı. Parafin emdirilip, yine parafinde bloklandı. Mikrotom ile 5-6 µm kalınlığında üçer adet kesit alındı. Kesitlere Hematoxylin-Eosin (HE) boyama yapıldı. Tüm preparatlar ışık mikroskopunda incelendi.

**Elektron mikroskopik inceleme için doku kesitlerinin hazırlanması:** Akciğerlerden alınan  $1 \text{ mm}^3$  hacimli doku örneklerinin %2.5 glutaraldehid- %4 paraformaldehid solüsyonunda 24 saat süre ile ilk tespiti yapıldı. 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 buzdolabında saklandı, sonra aralditte 2 saat süre ile oda ısısında rotatorda döndürüldü ve araldit ile bloklama yapıldı. Bloklardan yarı ince kesitler alınıp, toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskopta incelendi. İstenilen bölgelerin ince kesitleri alınarak uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandı ve Zeiss-9S elektron mikroskopunda incelendi

## Bulgular

**Klinik bulgular:** Enfeksiyonu takip eden günlerde tavşanlar normal görünürken ölümlerinin 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 intranasal olarak inoküle edildiği 12 tavşanın 5'i (%41) öldü. Diğerlerinin 4'üne onuncu günde ve 3'üne de on dördüncü günde ötanazi yapıldı. *Pasteurella multocida*'nın intratraheal olarak inoküle edildiği 12 tavşanın 10'u (%83) öldü. Bu gruptaki 1 tavşana onuncu günde ve 1'ine de on dördüncü günde ötanazi yapıldı. *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 on dördüncü günde ötanazi uygulandı.

**Mikrobiyolojik bulgular:** Denemelere başlamadan önce alınan burun svaplarının *Pasteurella multocida* yönünden mikrobiyolojik incelemesi negatifti. Nekropsileri yapılan tavşanların iç organlarından yapılan mikrobiyolojik ekimler sonrasında intranasal 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.

**Makroskopik bulgular:** Tüm lezyonlar trahea, akciğer, plöra ve perikardda görüldü; karaciğer, dalak, böbrek, meninks ve pankreaslarda konjesyon dışında 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 (Şekil 1). Perikarditiste perikardda benzeri bir eksudata rastlandı (Şekil 1).

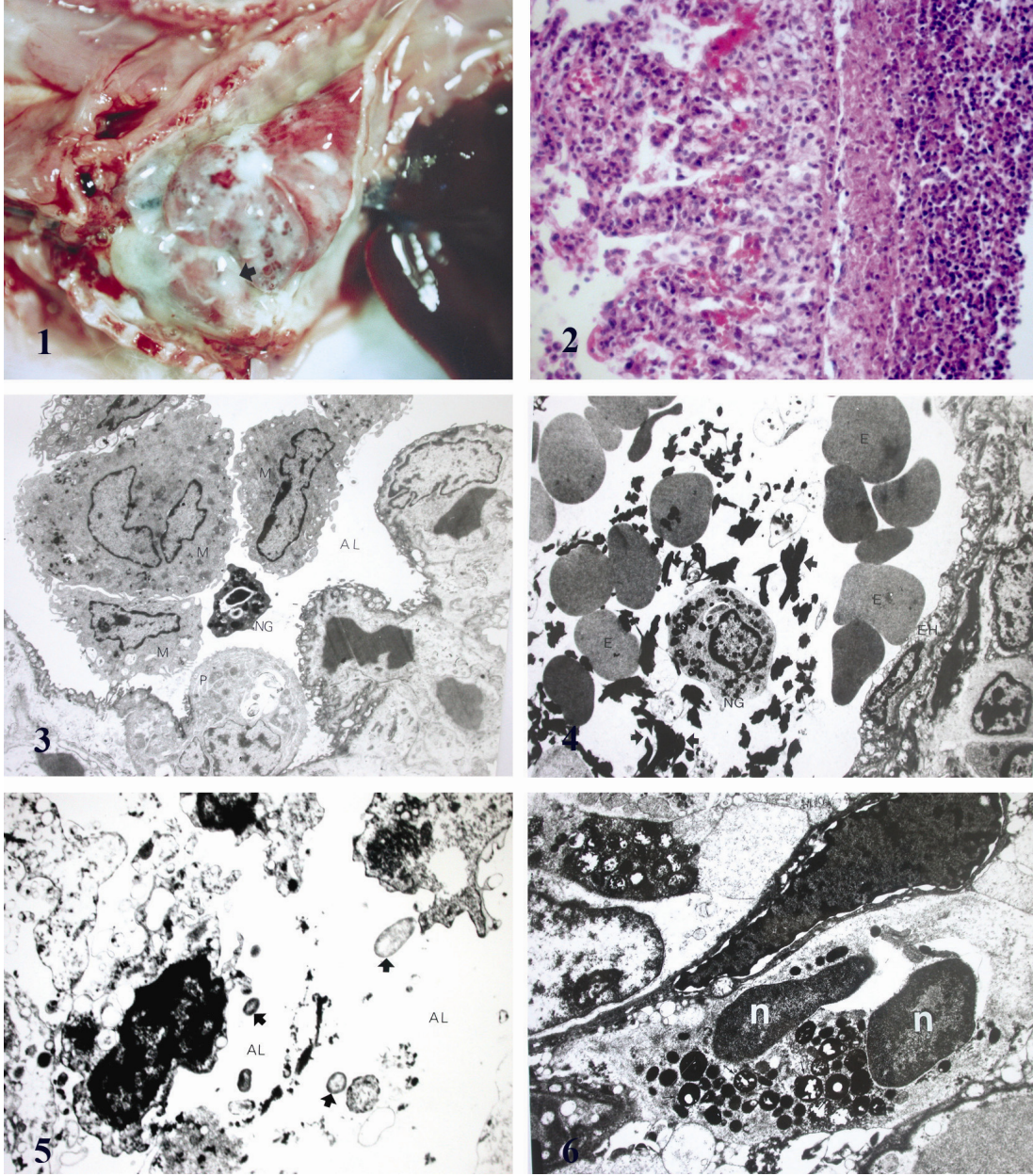
Intranasal inokülasyon deneme grubundaki tavşanlardan 1'inde traheitis (%8) ve 6'sında pnömoni (%50) gözlemlendi. Pnömonili 6 tavşanın ikisinde pnömoni ile birlikte plöritis (%17) de şekillenmişti. Plöritis bulgularına rastlanan bir tavşanda perikarditis (% 8) ve göğüs boşluğunun sağ bölümünde pyotoraks (%8) dikkati çekti. Intratraheal inokülasyon deneme grubundaki tavşanların 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. Intravenöz inokülasyon deneme grubundaki 12 deneme hayvanının sadece 2'sinin (%17) akciğerlerinde pnömoni lezyonlarına rastlandı. Her üç gruptaki kontrol tavşanları makroskopik olarak tümüyle normaldi.

**Mikroskopik bulgular:** Her üç gruptaki pnömonili tavşanların akciğerleri incelendiğinde benzer lezyonlara rastlandı. Lezyonlu akciğerlerde, alveol lumenlerinde çoğunluğunu nötrofil granülositlerin ve daha az olarak da makrofajların yer aldığı yangısal hücrelere ve fibrin kitlelerine rastlandı. Bronşiol epitellerinin yer yer ya da tümüyle nekroza uğradığı görüldü. Bronş ve bronşiol lumenleri normal ve dejenere nötrofil granülositler ve dökülmüş epitel hücreleriyle dolu durumdaydı. Özellikle intratraheal ve daha az olarak da intranasal grupta olmak üzere pnömonili akciğerlerde çok sayıda fokal parenkim nekrozu şekillenmişti. Plöritis şekillenen tavşanlarda plöra üzerinde yaygın şekilde fibrin kitlelerine ve nötrofil granülositlere rastlandı (Şekil 2). Perikarditis şekillenen tavşanlarda fibrin kitlelerine ve nötrofil granülositlere perikard üzerinde dikkati çekti. On dördüncü günde nekropsileri yapılan kontrol tavşanlarda herhangi bir histopatolojik bulgu dikkati çekmedi.

Lezyonlar yayılım özelliğine göre değerlendirildiğinde intranasal inokülasyon grubundaki tavşan akciğerlerinde, 3 tavşanda bronkopnömoninin ve 3 tavşanda ise lobar pnömoninin geliştiği, intratraheal inokülasyon grubunda 9 tavşanda lobar pnömoninin ve intravenöz inokülasyon grubundaki tavşanlardan birinde bronkopnömoninin ve birinde de lobar pnömoninin geliştiği görülmüştür. Eksudatın tipi göz önüne alınarak yapılan değerlendirmede her üç gruptaki pnömonilerin fibrinopurulent ve nekrotik karakterde oldukları saptandı.

**Elektron mikroskopik bulgular:** Elektron mikroskopik bulgular her üç gruptaki pnömoni şekillenen tavşanlarda benzer özellikteydi. Bronşiol lümenlerinde normal ve dejenere nötrofil granülositler, makrofajlar ve serbest eritrositler görüldü. Konsolidasyon alanlarının ultrastruktural incelemelerinde alveol lümenlerinin değişen miktarlarda nötrofil granülosit ve makrofajlarla dolu olduğu dikkati çekti. Bu hücrelerin sitoplazmalarında çok sayıda fagositik vakuol ve elektron yoğun lizozom gözlemlendi. Aktif makrofajlarda oldukça fazla psödopod bulunmaktaydı (Şekil 3). İnvasküler, intraalveoler ve interstisyel yoğun fibrin kitlelerine rastlandı. Fibrin irili ufaklı elektron yoğun ipliksi yapılar halindeydi. Damar endotelinde az sayıda vakuollerin olduğu dejeneratif değişiklikler dikkati çekti (Şekil 4).

Alveol lümenlerinde serbest halde ya da nötrofil granülositler tarafından fagosite edilmiş durumda fagozomlar ya da fagolizozomlar içinde *Pasteurella multocida*'lar görüldü (Şekil 5). *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 (Şekil 6). Etkenlere makrofajlarda da rastlandı. Alveol lümenlerinde yoğun miktarlarda hücre artık ürünleri yer almaktaydı. Tip II pnömonositlerde sayıca normale göre hafif bir artışla karşılaşıldı. Çoğu tip II pnömonositteki lamellar cisimciklerin yapısal olarak bozulduğu gözlemlendi.



Şekil 1. Göğüs boşluğu fibrinopurulent bir içerikle dolu. Akciğerde hafif konjesyon ve emfizem alanları. Fibrinopurulent plöritis ve perikarditis (ok).

Figure 1. Thoracal cavity filled fibrinopurulent exudate. A mild congestion and emphysema in lungs. Fibrinopurulent pleuritis and pericarditis (arrow).

Şekil 2. İntratraheal inokülasyon sonrası 9. gün. Fibrinopurulent plöritis. HE, x320.

Figure 2. Ninth day after intratracheal inoculation. Fibrinopurulent pleuritis. HE, x320.

Şekil 3. İntratraheal inokülasyon sonrası 10. gün. Alveol lumeninde çok sayıda makrofaj (M) ve bir adet nötrofil granülosit (NG). (AL)Alveol lumeni, (P) tip II pnömonosit. x3700.

Figure 3. Tenth day after intratracheal inoculation. Numerous macrophages (M) and neutrophyl granulocyte (NG) in (AL) alveolar lumen (P) type II pneumocyte. X3700.

Şekil 4. İntranazal inokülasyon sonrası 5. gün. İntravasküler fibrin oluşumları (oklar). (E) Eritrosit, (NG) nötrofil granülosit, (EH) endotel hücresi. x3600.

Figure 4. Fifth day after intranasal inoculation. Intravascular fibrine (arrows), (E) erythrocyte, (NG) neutrophyl granulocyte, (EH) endothelial cell. X3600.

Şekil 5. İntranazal inokülasyon sonrası 10. gün. Alveol lumeninde serbest halde görülen *Pasteurella multocida*'lar (oklar). (AL) Alveol lumeni. x6400.

Figure 5. Tenth day after intranasal inoculation. Free *Pasteurella multocidae* (arrows) in alveolar lumen. (AL) Alveolar lumen. X6400.

Şekil 6. İntranazal inokülasyon sonrası 4. gün. Bir nötrofil granülositin sitoplazmasında görülen *Pasteurella multocida*'lar (oklar). Bakterilerin sitoplazmalarında elektron-lusent bölgeler. (n) Nükleus. x7600.

Figure 6. Fourth day after intranasal inoculation. Many bacteria in a cytoplasm of neutrophyl granulocyte (arrows). Electron-lucent areas in cytoplasm of bacteria. (n) Nucleus. X7600.



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

### Tartışma ve Sonuç

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

Bu çalışmada, *Pasteurella multocida*'nın intranasal, intratraheal ve intravenöz inokülasyonları ile tavşanlarda oluşturulan pastörellozisin patolojik bulguları makroskopik, mikroskopik ve elektron mikroskopik olarak değerlendirildi. Deneme gruplarındaki tavşanlarda inokülasyonu izleyen günlerde hastalık bulgusuna rastlanmadı 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 % 4-50 arasında bildirilmiştir (DeLong ve Manning, 1994; Hagen, 1958; Ostler, 1961). Deneysel enfeksiyonlarda bu oran (% 17-100) daha yüksektir (Flatt ve Dungworth, 1971b; Glavits ve Magyar, 1990; Percy ve ark., 1986). 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. Ölüm oranlarındaki bu geniş dağılımın konakçının direnci, çevre koşulları, etkenin virülensi ve dozundaki farklılıklardan kaynaklandığı ileri sürülmüştür (DeLong ve Manning, 1994). Sokkar ve ark. (1987) ölüm oranlarındaki farklılığın inokülasyonun verilmiş 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.

Çalışmamızda intranasal ve intravenöz deneme gruplarından birer tavşanda traheitise rastlandı. Glavits ve Magyar (1990) *Pasteurella multocida* ile intranasal

olarak enfekte ettiği tavşanlarda traheitis geliştiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışma ile tavşanlarda intranasal, intratraheal ve intravenöz inokülasyon yoluyla pnömoni şekillendiği ancak oranlarının farklılık gösterdiği belirlendi. Doğal ve deneysel pastörellozis olgularında akciğer lezyonlarının sıklıkla gözlemlendiği bildirilmiştir (Hagen, 1958; Percy ve ark. 1986; Webster, 1925). Bu çalışmalar etken vücuda hangi yolla verilirse verilsin pnömoni oluşabileceğini fakat etkenin verilmiş yolunun pnömoni şekillenme oranını etkilediğini göstermiştir.

Sunulan çalışmada daha önce yapılan çalışmalar (Percy ve ark., 1986; Sokkar ve ark., 1987; Webster, 1925) ile uyumlu olarak konsolidasyon alanlarının kranioventral ya da diffuz dağılım gösterdiği fakat etkenin verilmiş yoluna göre dağılımın her çalışmada farklılık gösterdiği bu nedenle de genelleme yapmanın mümkün olmadığı sonucuna varıldı.

Percy ve ark. (1986) *Pasteurella multocida* serotip 3:A ile intratraheal olarak enfekte tavşanlarda fibrinopurulent pnömoniyeye rastladıklarını rapor etmişlerdir. Sokkar ve ark. (1987) *Pasteurella multocida* ile intranasal olarak enfekte ettikleri tavşanlarda purulent nekrotik bronkopnömoni yanında bazen serofibrinöz ya da fibrinopurulent bronkopnömoniyeye rastlandığını belirtmişlerdir. Flatt ve Dungworth (1971b) *Pasteurella multocida* ile intratraheal enfekte ettikleri tavşanlarda fibrinopurulent nekrotik pnömoni görüldüğünü belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada literatürle uyumlu olarak akciğerlerdeki yangı tipi göz önüne alınarak yapılan değerlendirmede, her üç inokülasyon deneme grubundaki pnömoni tipinin zaman bağlı bir farklılık olmaksızın fibrinopurulent ve nekrotik özellikte olduğu görüldü.

Farklı ırk ve inokülasyon yolları kullanılarak yapılan deneysel pastörellozis çalışmaları sonucunda fibrinopurulent plöritis, perikarditis ve pyotoraks rapor edilmiştir (Percy ve ark., 1986; Sokkar ve ark., 1987; Dillehay ve ark., 1990). Benzer bulgulara bizim çalışmamızda da rastlandı. Pyotoraks, plöritise ve perikarditis şekillenme oranlarının bizim çalışmamızda %25'leri geçmezken literatürde %66'lara kadar yükseldiği rapor edilmiştir. Bu geniş dağılım oranının etkenin verilmiş yolu, dozu, tavşanın ırkı ve etkenin virülansının farklı olması gibi faktörlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Tavşan pastörellozisinde akciğer lezyonları elektron mikroskopik olarak incelenmiştir (Al-Haddawi ve ark., 2000a,b; Redondo ve ark., 1990). Al-Haddawi ve ark. (2000a) intranasal inokülasyon sonucunda etkenin burun mukozası ve akciğer alveol epitelleri, endotel hücreleri ve intersitisyel hücrelerine yerleşerek yapısal değişikliklere neden olduğunu ve nötrofil granülositler ve makrofajların doku hasarında önemli rol oynadıklarını belirtmişlerdir.

Al-Haddawi ve ark. (2000b) *in-vitro* denemelerde *Pasteurella multocida* serotip D:1'in trakea ve aorta,

serotip A:3'ün ise akciğerlere daha iyi tutunduğunu belirtmişlerdir.

Al-Haddawi ve ark. (2001) ayrıca *Pasteurella multocida* serotip D ile intranasal olarak inoküle ettiği tavşanların burun ve trakea mukozalarındaki değişiklikleri elektron mikroskopik olarak incelemişlerdir. Buzağı ve farelerde de pastörella pnömonilerinin ultrastrüktürel çalışmaları mevcuttur (Pace ve ark., 1994; Whiteley ve ark., 1991). Bu çalışmadaki her üç deneme grubunda bulunan tavşan akciğerlerinin elektron mikroskopik bulguları benzer özellikteydi. Çalışmamızda dikkat çeken bir bulgu da yoğun fibrin kitlelerinin varlığıydı. Fibrin kitleleri kapillar lumenlerinde, alveol lumenlerinde ve interalveoler dokuda gözlemlendi. Whiteley ve ark. (1991) tarafından da tanımlanan kapillar lumenlerinde fibrin kitlelerinin varlığı damar içi pıhtılaşmanın bir bulgusu olarak değerlendirildi.

Elektron mikroskopik incelemelerimizde *Pasteurella multocida*'lar alveol lumenlerindeki nötrofil granülositler ile makrofajların ve kapillar lumenlerindeki nötrofil granülositlerin sitoplazmalarında fagozomlar ya da fagolizozomlar içinde normal ya da dejenere formda gözlemlendi. Etkenlerin nötrofil granülositlerin sitoplazmalarındaki varlığı diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Pace ve ark., 1994; Redondo ve ark., 1990, 1993; Whiteley ve ark., 1991).

Sonuç olarak, deneme gruplarındaki ölüm oranları, pnömoni şekillenme oranları ve pnömoni şiddetleri kıyaslandığında en etkin inokülasyon yolunun literatürle uyumlu olarak intratraheal yol olduğu, daha az olarak da intranasal yol olduğu ve intravenöz yolun ise en az etkili inokülasyon yolu olduğu belirlendi. Bu çalışma sonucunda, her ne kadar doğal bir yol olmasa da, *Pasteurella multocida* ile tavşanlarda akciğer lezyonlarının oluşturulması ve incelenmesi çalışmalarında intratraheal inokülasyon yolunun etkin bir başarı sağladığı görüldü.

### Kaynaklar

1. Alexander MM, Sawin PB, Roehm DA (1952): Respiratory infection in the rabbit: An enzootic caused by *Pasteurella lepi-septica* and attempts to control it by vaccination. J Infect Dis, **90**, 30-33.
2. Al-Haddawi MH, Jasni S, Israf DA, Zamri-Saad M, Mutalib AR, Sheikh-Omar AR (2001): Ultrastructural pathology of nasal and tracheal mucosa of rabbits experimentally infected with *Pasteurella multocida* serotype D:1. Res Vet Sci, **70**, 191-197.
3. Al-Haddawi MH, Jasni S, Zamri-Saad M, Mutalib AR, Son R, Sheikh-Omar AR (2000a): Ultrastructural observation of nasal and pulmonary intracellular *Pasteurella multocida* A:3 in rabbits. Vet Res Commun, **24**, 153-167.
4. Al-Haddawi MH, Jasni S, Zamri-Saad M, Mutalib AR, Zulkiffi I, Son R, Sheikh-Omar AR (2000b): In vitro study of *Pasteurella multocida* adhesion to trachea, lung and aorta of rabbits. Vet J, **159**, 274-281.
5. DeLong D, Manning PJ (1994): Bacterial disease, pp. 131-170. In Manning PJ, Ringler DH, Newcomer CE The Biology of Laboratory Rabbit. 2nd edition. Academic Press, Inc., Orlando, Fla.
6. Dillehay DL, Paul KS, Digiacommo RF, Chengappa MM (1990): Pathogenicity of *Pasteurella multocida* A:3 in Flemish Giant and New Zealand White rabbits. Lab Anim, **25**, 337-341.
7. Flatt RE, Dungworth DL (1971a): Enzootic pneumonia in rabbits: Naturally occurring lesions in lungs of apparently healthy young rabbits. Am J Vet Res, **32**, 321-326.
8. Flatt RE, Dungworth DL (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.
9. Glavits R, Magyar T (1990): The pathology of respiratory infection with *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* in rabbits. Acta Vet Hung, **38**, 211-215.
10. Hagen KW (1958): Enzootic pasteurellosis in domestic rabbits. I. Pathology and bacteriology. J Am Vet Med Assoc, **133**, 77-80.
11. Ostler DC (1961): The disease of broiler rabbits. Vet Rec, **73**, 1237-1253.
12. Pace LW, Turk JR, Corstvet RE, Enright FM, Henk W (1994): Induction of acute bronchopneumonia in mice by intrabronchial inoculation of *Pasteurella haemolytica* serotype 1. Can J Vet Res, **58**, 79-82.
13. Percy DH, Bhasin JL, Rosendal S (1986): Experimental pneumonia in rabbits inoculated with strains of *Pasteurella multocida*. Can J Vet Res, **50**, 36-41.
14. Redondo E, Roncero V, Masot AJ, Duran E, Gazquez A (1990): Experimental rabbit pneumonic pasteurellosis: an ultrastructural and morphometric study. Acta Med Vet, **36**, 3-20.
15. Redondo E, Masot AJ, Gázquez A, Roncero V, Durán E, Piriz S (1993): Experimental reproduction of acute pneumonic pasteurellosis in rabbits. Histol Histopathol, **8**, 97-104.
16. Sokkar SM, Mohammed MA, Fetaih H (1987). Pathogenesis of *Pasteurella multocida* in experimentally infected rabbits. Arch Exp Vet Med, **41**, 516-521.
17. Webster LT (1925): Epidemiological studies on respiratory infections of the rabbit. VII. Pneumonia associated with *Bacterium lepi-septicum*. J Exp Med, **43**, 555-572.
18. Whiteley LO, Maheswaran SK, Weiss DJ, Ames TR (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.

Geliş tarihi: 04.09.2009 / Kabul tarihi: 20.04.2010

### Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Murat Yarım  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,  
55139 Kurupelit, Samsun