

Köpeklerde Deneysel Akciğer Aspergillozis'i ve Itrakonazol ile Sağaltımı

Yücel ÇAM¹, Ayhan ATASEVER², Fatma UYANIK³, Kadir Semih GÜMÜŞSOY⁴

¹ Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

² Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

³ Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

⁴ Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

Özet : Bu çalışmada, köpeklerde *Aspergillus fumigatus* ile intratrakeal yolla oluşturulan deneysel enfeksiyonda; klinik, hematolojik, biyokimyasal, idrar, histopatolojik ve mikolojik bulguların belirlenmesi ve itrakonazol'un sağaltım etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada, 16 sağlıklı erkek köpek, enfekte kontrol ve sağaltım grubu olmak üzere iki eşit gruba ayrıldı. *Aspergillus fumigatus* inokulasyonundan önce köpeklere siklofosamid verildi. Daha sonra intratrakeal yolla *A. fumigatus* inokule edildi. Etkenin verilisinin 5. gününde her iki grupta lökositosis belirlendi. Serum ALP aktivitesi yükselirken, total protein, albumin ve globulin konsantrasyonları düştü. Köpeklerin akciğerler ve burun eküvyonundan *A. fumigatus* izole edilirken histopatolojik olarak sadece akciğerlerde granulomatöz yangı ve etken hifaları tespit edildi. Etken verilmesini takiben 7. günde sağaltıma başlandı. Sağaltım grubundaki köpeklere 10 mg/kg vücut ağırlığı/gün dozda 30 gün süreyle oral itrakonazol verildi. Deneme sonunda, sağaltım grubunda bir köpekte gözlenen deri lezyonları ve enfekte kontrol grubunda iki köpekte gözlenen seröz burun akıntısı dışında tüm klinik belirtilerin düzeldiği belirlendi. Deneme öncesindeki değerlere göre, enfekte kontrol grubunda serum albumin konsantrasyonunda ve ALT aktivitesinde düşme, sağaltım grubunda serum ALT aktivitesinde yükselme, MCHC değerinde düşme ve total protein, albumin ve globulin konsantrasyonlarında düşmenin devam etmesi dışında her iki grupta hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin normale yakın olduğu tespit edildi. Enfekte gruptaki 2 köpeğin burun eküvyonu ve akciğerlerinden etken izole edilirken her iki gruptaki köpeklerde akciğerlerin histopatolojik olarak normal olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: *Aspergillus fumigatus*, deneysel aspergillozis, itrakonazol, köpek

Experimental Pulmoner Aspergillosis in Dogs and Treatment with Itraconazole

Summary : The aim of this study was to determine the clinical, haematological, biochemical, urine, histopathological and mycological findings and to evaluate the efficiency of itraconazole treatment in experimentally infected dogs via intratracheal route with *Aspergillus fumigatus*. In study, 16 healthy male dogs were evenly divided into two groups as infected control and treated. Cyclophosphamide was injected to dogs before the inoculation of *A. fumigatus*. Then, *A. fumigatus* was inoculated via intratracheal route. On day 5 after the inoculation of the agent, leukocytosis were determined in both groups. Serum total protein, albumin and globulin concentrations were decreased while serum ALP activity was increased. *Aspergillus fumigatus* was isolated from nasal swabs and lungs of the dogs while the hyphae of the agent and granulomatous inflammation were observed only in lungs by histopathological examination. The treatment of animals was started on day 7 after the inoculation of the agent. Itraconazole, at 10 mg/kg body weight/day was administered orally for 30 days. At the end of the experiment, all of the clinical signs in both groups were recovered except cutaneous lesions in one dog in the itraconazole treated group and serous nasal discharge in 2 dogs in the infected group. Compared to the beginning values of the experiment, haematological and biochemical parameters in both groups returned closely to normal values except the reductions in serum albumin concentrations and ALT activities in infected control group; elevation in serum ALT activity; decrease in MCHC; progressive reduction in total protein, albumin and globulin concentrations in itraconazole treated group. Significant histopathologic lesions in the lungs of the dogs were not seen in both groups while *Aspergillus fumigatus* was isolated from nasal swabs and lungs from only 2 dogs in the infected group.

Key Words: *Aspergillus fumigatus*, dog, experimental aspergillosis, itraconazole

Giriş

Aspergillozis, hemen hemen bütün evcil ve bir çok yabani hayvan türlerinde kaydedilmiştir (6,17). Hastalık köpeklerde genellikle solunum (16,17), bazen de kan yoluyla böbrek, karaciğer, dalak, kalp, adrenler, pankreas, lenf nodülleri, kemik, beyin ve göz gibi or-

ganlara yayılarak sistemik hastalıklara yol açan aspergillus genusuna ait etkenler tarafından oluşturulur (3,6,17,20). Köpeklerde en patojen türün *A. fumigatus* olduğu bildirilmektedir (6,17,19). Etkenin vücuda pek çok yol ile alındığı bilinmesine karşın en önemli enfeksiyon yolu solunum yoludur (6,17). Enfeksiyonun, belirli sayıda spor alınması yanında konakçıda bir immun yetmezlik ya da lokal savunma mekanizmalarının bozulmasıyla gelişebileceği

vurgulanmaktadır (6,17,19). Belirli sayıda sporun damar içi (2,11,13) ve intratrakeal (11,15) olarak verilmesiyle enfeksiyonun deneysel olarak da oluşturulabileceği bildirilmektedir.

Aspergillozis'in sağaltımında çeşitli antifungal ilaçlar kullanılmaktadır (6,7,17). Hastalığın rutin sağaltımında thiabendazol, ketokonazole, amfoterisin-B ve flukonazol gibi ilaçların kullanıldığı ve bu ilaçların % 43-60 başarılı olduğu bildirilmektedir (6,17). Son yıllarda itrakonazol kullanımıyla % 60-70 iyi sonuçlar alındığı belirtilmektedir (2,6,17). İnsan hekimliğinde yaygın olarak kullanılan bu ilaç veteriner hekimlikte son yıllarda kullanılmaya başlanmıştır (8,10,17). Köpeklerde hastalığın itrakonazol ile sağaltımında sınırlı sayıda çalışma (3,7,8,19) bulunmakla, sağaltım için en etkili doz henüz bilinmemektedir (8,17). Türkiyede de köpek aspergillozis'i ve bu ilaçla sağaltımıyla ilgili sadece bir çalışmaya rastlanılmıştır (2). Bu çalışmada, köpeklerde *A. fumigatus* ile intratrakeal yolla oluşturulan deneysel enfeksiyonda; klinik, hematolojik, biyokimyasal, idrar, histopatolojik ve mikolojik bulguların belirlenmesi ve itrakonazol'un sağaltım etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada, 17-25 kg canlı ağırlıkta, melez, 1-3 yaşlı, 16 sağlıklı erkek köpek kullanıldı. Her bir grupta 8'er köpek olacak şekilde enfekte kontrol ve sağaltım grubu olmak üzere rastgele 2 gruba bölündüler. Köpekler tek tek tel kafeslerde tutuldular, pelet yem ile beslendiler ve bokslarında sürekli temiz su bulunduruldu.

Aspergillus fumigatus Hollanda CBC suşu Hollanda'dan (Dr. F.M.S. Meis Jacques, Department of Medical Microbiology Caninus Wilhelmina Hospital Nijmegen, The Netherlands) temin edildi. Suşun üretilmesi ve alınan marazi maddelerden etkenin izolasyonu amacıyla penisilin 20 I.U./ml + streptomisin 40 µg/ml içeren Sabouroud Dekstroz Agar (SDA) ve Czapek-Dox Agardan yararlanıldı. Besi yerlerinde üreyen kolonilerin makroskopik ve mikroskopik muayeneleri yapıldı (1). Enfeksiyon oluşturulması için, Shimadzu-UV 1208 model spektrofotometrede, 530 nm dalga boyunda optik dansitesi 0.09-0.11 arasında olan *A. fumigatus* spor süspansiyonu hazırlandı ve fizyolojik tuzlu su içerisinde 2.7×10^6 spor/ml'ye karşılık gelen süspansiyon inokulum olarak kullanıldı (5).

Deneysel Enfeksiyon Oluşturulması için, önce siklofosamid (Endoxan-Asta® 500 mg flk, İ.E. Ulugay) 2,2 mg/kg canlı ağırlık/gün dozda üst üste 2 gün ve 1 gün arayla üç kez intravenöz olarak verildi. Üçüncü dozun verilmesini takiben 1 ml fizyolojik tuz-

lu su içerisinde 2.7×10^6 adet spor içeren *A. fumigatus* inokulumundan her bir köpeğe 5 ml intratrakeal verildi.

Sağaltıma etken inokulasyonundan sonraki 7. günde başlandı. Sağaltım grubundaki köpeklere itrakonazol (Itraspor, 100 mg'lık 15 kapsüllü kutu, Janssen-Cilag) 10 mg/kg canlı ağırlık/gün dozda 30 gün süreyle oral verildi.

Çalışma boyunca köpeklerde gelişen klinik belirtiler gözlemlendi. Ayrıca deneme öncesinde (I. dönem), etken inokulasyonundan sonraki 5. günde (II. dönem) ve deneme sonunda (III. dönem) beden ısıları, dakikadaki solunum ve nabız sayıları belirlendi, kan ve idrar örnekleri toplandı. Lökosit, eritrosit ve trombosit sayıları, hemoglobin konsantrasyonu, hematokrit değeri, ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama hemoglobin miktarı (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), eritrosit dağılım genişliği (RDW), ortalama trombosit hacmi (MPV) ve trombosit dağılım genişliği (PDW) kan sayım cihazı (Beckman Coulter) ile saptandı. Serum alkalen fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) (Biolabo, France) aktiviteleleri; üre, glikoz, total protein, albumin, globulin, bilirubin (direkt), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve fosfor (P) (Chema Diagnostica, Italy) konsantrasyonları ticari kitler kullanılarak Shimadzu-UV 1208 model spektrofotometre ile belirlendi. İdrarın fiziksel (bulanıklık, tortu, renk), kimyasal (pH, özgül ağırlık, protein, keton cisimleri, bilirubin, kan, nitrit, hemoglobin, ürobilinojen) ve sedimant (lökosit, eritrosit, epitel hücreleri, silindirler, kristaller) muayeneleri idrar analizörü (Iris-500) ile gerçekleştirildi. İdrarın ve bu-run eküvyonlarının mikolojik muayenesi yapıldı.

Etken inokulasyonundan sonra 5. günde enfekte kontrol grubundan 4 köpek ile deneme sonunda her iki gruptan 4'er köpek süksinilkolin klorür + sodyum klorür (lysthenon® forte % 2 ampul, Fako) ile uyutularak nekropsileri yapıldı. Nekropsisi yapılan köpeklerin makroskopik muayenesinden sonra lezyonlu organlardan doku örnekleri alınarak %10'luk tamponlu formalinde tespit edildi. Rutin olarak işlenip parafinde bloklandı ve hematoxilen-eosin (HE) ile boyandı. Gerekle duyulan kesitlere Gridley's Method for Fungi teknikleri ile özel boyama yapıldı. Kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Ayrıca akciğer, karaciğer, böbrek, kalp, dalak, burun konhası, lenf yumrusu, pankreas, göz ve beyin gibi organlardan örnek alınarak mikolojik kültür yapıldı.

Verilerin istatistiki analizleri için SPSS 9.0 paket programı kullanıldı. Veriler, aritmetik ortalama ve standart

hata şeklinde ifade edildi. Gruplar arası farkın belirlenmesinde Mann Whitney U testi kullanıldı. Dönemler arası farkın tespitinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Farklı olan dönemler ise Duncan testi ile belirlendi (4).

Bulgular

Klinik Bulgular: Etken inokulasyonundan sonraki 2. günden itibaren tüm köpeklerde çeşitli derecelerde burun akıntısı, hapşırma, öksürük, solunum güçlüğü, oskultasyonda solunum seslerinde sertleşme ve hafif durgunluk dışında herhangi bir bulgu belirlenmedi.

Enfeksiyonun 5. gününde enfekte kontrol ve sağaltım gruplarındaki hayvanların solunum sayılarında artış (sırasıyla $p<0.01$; $p<0.05$) belirlendi (Tablo 1). Sağaltıma başlandıktan sonra sağaltım grubunda daha hızlı olmak koşuluyla her iki grupta da bu semptomlar dereceli olarak azaldı. Sağaltım grubundaki bir köpekte sağaltımın 28. gününde sol regio ischii bölgesi ile ön ve arka bacaklarda deri lezyonları gelişti. Deneme sonunda, enfekte kontrol grubunda 2 köpekte gözlemlenen seröz burun akıntısı ile sağaltım grubundaki bir köpekte belirlenen deri lezyonları dışında tüm bulguların düzeldiği belirlendi.

Tablo 1: Denemede kullanılan köpeklere ait deneme öncesi (I. dönem), *A.fumigatus* suşunun inokulasyonundan sonraki 5. gün (II. dönem) ve deneme sonrası (III. dönem) nabız sayısı, beden ısısı, solunum sayısı, idrar pH ve özgül ağırlığı

Parametre	Dönem	Gruplar								
		Enfekte Kontrol Grubu				Sağaltım Grubu				Gruplar arası (p)
		n	($\bar{x}\pm Sx$)	Dönemler arası		n	($\bar{x}\pm Sx$)	Dönemler arası		
		(F)	(p)			(F)	(p)			
Nabız Sayısı (dakika)	I.	8	108.25 ± 4.06			8	103.00 ± 4.77			$p>0.05$
	II.	8	116.50 ± 5.53	0.861	$p>0.05$	8	110.25 ± 7.28	0.804	$p>0.05$	$p>0.05$
	III.	4	113.00 ± 2.38			8	107.88 ± 4.87			$p>0.05$
Derece (C^0)	I.	8	38.49 ± 0.11 ^{ab}			8	38.16 ± 0.14			$p>0.05$
	II.	8	39.00 ± 0.25 ^b	3.926	$P<0.05$	8	38.65 ± 0.16	2.913	$p>0.05$	$p>0.05$
	III.	4	38.18 ± 0.19 ^a			8	38.33 ± 1.13			$p>0.05$
Solunum Sayısı (dakika)	I.	8	21.25 ± 0.75 ^a			8	21.50 ± 0.82 ^a			$p>0.05$
	II.	8	32.00 ± 1.65 ^b	19.102	$P<0.01$	8	31.00 ± 2.62 ^b	9.485	$P<0.05$	$p>0.05$
	III.	4	24.00 ± 1.63 ^a			8	23.00 ± 0.85 ^a			$p>0.05$
İdrar özgül ağırlığı	I.	8	1020.75 ± 2.31			8	1023.88 ± 0.93			$p>0.05$
	II.	8	1022.50 ± 1.89	1.617	$p>0.05$	8	1024.75 ± 1.35	1.019	$p>0.05$	$p>0.05$
	III.	4	1027.50 ± 3.23			8	1026.25 ± 1.25			$p>0.05$
İdrar pH	I.	8	6.19 ± 0.23			8	6.06 ± 0.11			$p>0.05$
	II.	8	6.56 ± 0.18	0.890	$p>0.05$	8	6.06 ± 0.11	0.224	$p>0.05$	$p<0.05$
	III.	4	6.38 ± 0.24			8	6.18 ± 0.21			$p>0.05$

^{abc} Aynı sütunda değişik harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).

Hematolojik ve Biyokimyasal Bulgular: Hematolojik ve biyokimyasal parametrelere ait veriler Tablo 2 ve 3'de verilmiştir.

İdrar Analiz Bulguları: İdrar analiz bulgularının deneme boyunca normal olduğu belirlendi.

Tablo 2: Denemede kullanılan köpeklere ait deneme öncesi (I. dönem), *A.fumigatus* suşunun inokulasyonundan sonraki 5. gün (II. dönem) ve deneme sonrası (III. dönem) hematolojik parametreler

Parametre	Dönem	Gruplar								Gruplar arası (p)
		Enfekte Kontrol Grubu				Sağaltım Grubu				
		n	(x±Sx)	Dönemler arası		n	(x±Sx)	Dönemler arası		
		(F)	(p)			(F)	(p)			
Lökosit (x10 ³ /µl)	I.	8	10.96 ± 0.60 ^a	14.454	P<0.05	8	11.40 ± 1.10 ^a	6.524	P<0.05	p>0.05
	II.	8	19.40 ± 1.91 ^b			8	21.13 ± 3.51 ^b			p>0.05
	III.	4	9.30 ± 0.97 ^a			8	11.85 ± 0.58 ^a			p<0.05
Eritrosit (x10 ⁶ /µl)	I.	8	6.23 ± 0.22	0.216	p>0.05	8	6.72 ± 0.17	1.70	p>0.05	p>0.05
	II.	8	6.22 ± 0.26			8	6.51 ± 0.24			p>0.05
	III.	4	6.46 ± 0.18			8	6.02 ± 0.38			p>0.05
Hematokrit (%)	I.	8	43.05 ± 1.71	0.250	p>0.05	8	46.40 ± 1.25	1.244	p>0.05	p>0.05
	II.	8	43.35 ± 2.20			8	44.43 ± 1.53			p>0.05
	III.	4	45.23 ± 1.37			8	42.79 ± 1.97			p>0.05
Hemoglobin (g/dl)	I.	8	14.95 ± 0.59	0.116	p>0.05	8	16.25 ± 0.44	2.134	p>0.05	p>0.05
	II.	8	14.95 ± 0.76			8	15.61 ± 0.54			p>0.05
	III.	4	15.43 ± 0.36			8	14.46 ± 0.74			p>0.05
MCV (fl)	I.	8	69.27 ± 1.08	0.111	p>0.05	8	69.28 ± 0.30	0.393	p>0.05	p>0.05
	II.	8	69.58 ± 1.01			8	69.34 ± 0.68			p>0.05
	III.	4	70.08 ± 0.94			8	69.88 ± 0.58			p>0.05
MCH (pg)	I.	8	23.98 ± 0.37	0.011	p>0.05	8	24.06 ± 0.40	0.050	p>0.05	p>0.05
	II.	8	23.98 ± 0.32			8	24.02 ± 0.36			p>0.05
	III.	4	23.90 ± 0.36			8	24.20 ± 0.46			p>0.05
MCHC (g/dl)	I.	8	34.60 ± 0.18	0.960	p>0.05	8	34.83 ± 0.17 ^a	3.532	P<0.05	p>0.05
	II.	8	34.49 ± 0.28			8	35.15 ± 0.13 ^a			p>0.05
	III.	4	34.08 ± 0.21			8	32.50 ± 1.29 ^b			p>0.05
RDW (%)	I.	8	14.05 ± 0.31	3.018	p>0.05	8	14.00 ± 0.33	2.80	p>0.05	p>0.05
	II.	8	17.83 ± 3.76			8	14.46 ± 0.40			p>0.05
	III.	4	15.68 ± 1.07			8	15.80 ± 0.42			p>0.05
Trombosit (x10 ⁵ /µl)	I.	8	323.50 ± 31.69	1.087	p>0.05	8	323.25 ± 28.80	0.887	p>0.05	p>0.05
	II.	8	319.88 ± 28.54			8	329.25 ± 25.97			p>0.05
	III.	4	395.75 ± 114.28			8	372.25 ± 30.22			p>0.05
PDW (%)	I.	8	15.68 ± 0.23	3.018	p>0.05	8	16.26 ± 0.16	2.313	p>0.05	p>0.05
	II.	8	16.18 ± 0.26			8	16.63 ± 0.29			p>0.05
	III.	4	15.68 ± 0.21			8	15.94 ± 0.21			p>0.05
MPV (fl)	I.	8	9.74 ± 0.54	0.23	p>0.05	8	9.05 ± 0.19	0.337	p>0.05	p>0.05
	II.	8	9.53 ± 0.39			8	9.01 ± 0.37			p>0.05
	III.	4	9.23 ± 0.37			8	9.39 ± 0.45			p>0.05

^{abc} Aynı sütunda değişik harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Hematolojik ve Biyokimyasal Bulgular: Hematolojik ve biyokimyasal parametrelere ait veriler Tablo 2 ve 3'de verilmiştir.

İdrar Analiz Bulguları: İdrar analiz bulgularının deneme boyunca normal olduğu belirlendi.

Tablo 2: Denemede kullanılan köpeklere ait deneme öncesi (I. dönem), *A.fumigatus* suşunun inokulasyonundan sonraki 5. gün (II. dönem) ve deneme sonrası (III. dönem) hematolojik parametreler

Parametre	Dönem	Gruplar								Gruplar arası (p)
		Enfekte Kontrol Grubu				Sağaltım Grubu				
		n	($\bar{x} \pm Sx$)	Dönemler arası		n	($\bar{x} \pm Sx$)	Dönemler arası		
		(F)	(p)			(F)	(p)			
Lökosit ($\times 10^3/\mu l$)	I.	8	10.96 \pm 0.60 ^a			8	11.40 \pm 1.10 ^a			p>0.05
	II.	8	19.40 \pm 1.91 ^b	14.454	P<0.05	8	21.13 \pm 3.51 ^b	6.524	P<0.05	p>0.05
	III.	4	9.30 \pm 0.97 ^a			8	11.85 \pm 0.58 ^a			p<0.05
Eritrosit ($\times 10^6/\mu l$)	I.	8	6.23 \pm 0.22			8	6.72 \pm 0.17			p>0.05
	II.	8	6.22 \pm 0.26	0.216	p>0.05	8	6.51 \pm 0.24	1.70	p>0.05	p>0.05
	III.	4	6.46 \pm 0.18			8	6.02 \pm 0.38			p>0.05
Hematokrit (%)	I.	8	43.05 \pm 1.71			8	46.40 \pm 1.25			p>0.05
	II.	8	43.35 \pm 2.20	0.250	p>0.05	8	44.43 \pm 1.53	1.244	p>0.05	p>0.05
	III.	4	45.23 \pm 1.37			8	42.79 \pm 1.97			p>0.05
Hemoglobin (g/dl)	I.	8	14.95 \pm 0.59			8	16.25 \pm 0.44			p>0.05
	II.	8	14.95 \pm 0.76	0.116	p>0.05	8	15.61 \pm 0.54	2.134	p>0.05	p>0.05
	III.	4	15.43 \pm 0.36			8	14.46 \pm 0.74			p>0.05
MCV (fl)	I.	8	69.27 \pm 1.08			8	69.28 \pm 0.30			p>0.05
	II.	8	69.58 \pm 1.01	0.111	p>0.05	8	69.34 \pm 0.68	0.393	p>0.05	p>0.05
	III.	4	70.08 \pm 0.94			8	69.88 \pm 0.58			p>0.05
MCH (pg)	I.	8	23.98 \pm 0.37			8	24.06 \pm 0.40			p>0.05
	II.	8	23.98 \pm 0.32	0.011	p>0.05	8	24.02 \pm 0.36	0.050	p>0.05	p>0.05
	III.	4	23.90 \pm 0.36			8	24.20 \pm 0.46			p>0.05
MCHC (g/dl)	I.	8	34.60 \pm 0.18			8	34.83 \pm 0.17 ^a			p>0.05
	II.	8	34.49 \pm 0.28	0.960	p>0.05	8	35.15 \pm 0.13 ^a	3.532	P<0.05	p>0.05
	III.	4	34.08 \pm 0.21			8	32.50 \pm 1.29 ^b			p>0.05
RDW (%)	I.	8	14.05 \pm 0.31			8	14.00 \pm 0.33			p>0.05
	II.	8	17.83 \pm 3.76	3.018	p>0.05	8	14.46 \pm 0.40	2.80	p>0.05	p>0.05
	III.	4	15.68 \pm 1.07			8	15.80 \pm 0.42			p>0.05
Trombosit ($\times 10^5/\mu l$)	I.	8	323.50 \pm 31.69			8	323.25 \pm 28.80			p>0.05
	II.	8	319.88 \pm 28.54	1.087	p>0.05	8	329.25 \pm 25.97	0.887	p>0.05	p>0.05
	III.	4	395.75 \pm 114.28			8	372.25 \pm 30.22			p>0.05
PDW (%)	I.	8	15.68 \pm 0.23			8	16.26 \pm 0.16			p>0.05
	II.	8	16.18 \pm 0.26	3.018	p>0.05	8	16.63 \pm 0.29	2.313	p>0.05	p>0.05
	III.	4	15.68 \pm 0.21			8	15.94 \pm 0.21			p>0.05
MPV (fl)	I.	8	9.74 \pm 0.54			8	9.05 \pm 0.19			p>0.05
	II.	8	9.53 \pm 0.39	0.23	p>0.05	8	9.01 \pm 0.37	0.337	p>0.05	p>0.05
	III.	4	9.23 \pm 0.37			8	9.39 \pm 0.45			p>0.05

^{abc} Aynı sütunda değişik harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Tablo 3: Denemede kullanılan köpeklere ait deneme öncesi (I. dönem), *A.fumigatus* suşunun inokulasyonundan sonraki 5. gün (II. dönem) ve deneme sonrası (III. dönem) biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler.

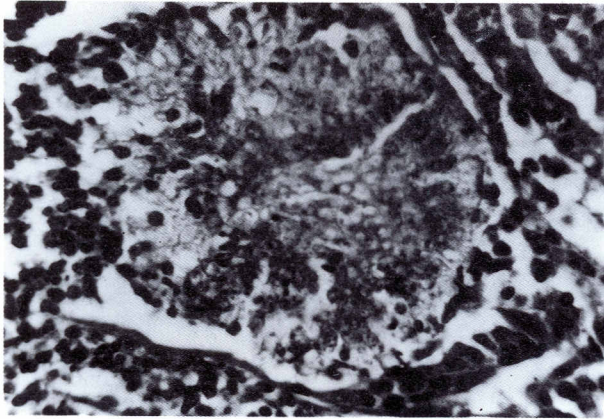
Parametre	Dönem	Gruplar								
		Enfekte Kontrol Grubu				Sağaltım Grubu				
		n	($\bar{x} \pm Sx$)	Dönemler arası		n	($\bar{x} \pm Sx$)	Dönemler arası		Gruplar arası (p)
		(F)	(p)			(F)	(p)			
ALP (IU/L)	I.	8	99.88 ± 15.79 ^a			8	96.55 ± 9.75 ^a			p>0.05
	II.	8	189.74 ± 33.29 ^b	4.787	p<0.05	8	168.74 ± 22.49 ^b	0.939	p<0.05	p>0.05
	III.	4	82.21 ± 17.44 ^a			8	89.28 ± 8.41 ^a			p>0.05
AST (IU/L)	I.	8	30.06 ± 3.35			8	28.11 ± 2.57			p>0.05
	II.	8	22.95 ± 1.84	1.597	p>0.05	8	22.74 ± 1.35	2.289	p>0.05	p>0.05
	III.	4	23.43 ± 5.91			8	23.31 ± 1.79			p>0.05
ALT (IU/L)	I.	8	32.69 ± 4.52			8	34.86 ± 5.00			p>0.05
	II.	8	25.26 ± 4.73	1.438	p>0.05	8	32.56 ± 5.27	1.571	p>0.05	p>0.05
	III.	4	20.84 ± 3.64			8	52.49 ± 18.22			p<0.05
Üre (mg/dl)	I.	8	25.26 ± 4.06			8	24.80 ± 5.20			p>0.05
	II.	8	23.66 ± 4.41	0.406	p>0.05	8	21.08 ± 3.54	0.459	p>0.05	p>0.05
	III.	4	19.24 ± 1.72			8	20.59 ± 3.06			p>0.05
Glikoz (mg/dl)	I.	8	69.93 ± 5.36			8	71.03 ± 3.69 ^a			p>0.05
	II.	8	89.95 ± 6.04	3.409	p>0.05	8	97.50 ± 5.61 ^b	10.991	p<0.05	p>0.05
	III.	4	79.55 ± 5.35			8	82.00 ± 1.79 ^a			p>0.05
Total protein (g/dl)	I.	8	7.31 ± 0.19			8	6.98 ± 1.14 ^a			p>0.05
	II.	8	6.81 ± 0.32	0.954	p>0.05	8	6.21 ± 0.20 ^b	10.991	p<0.05	p>0.05
	III.	4	7.13 ± 0.32			8	5.93 ± 0.26 ^b			p<0.05
Albumin (g/dl)	I.	8	2.46 ± 0.08			8	2.26 ± 0.13 ^a			p>0.05
	II.	8	2.20 ± 0.07	3.911	p>0.05	8	1.88 ± 0.06 ^b	6.58	p<0.05	p<0.05
	III.	4	2.20 ± 0.11			8	1.84 ± 0.06 ^b			p<0.05
Globulin (g/dl)	I.	8	4.94 ± 0.26			8	4.76 ± 0.09			p>0.05
	II.	8	4.61 ± 0.34	0.366	p>0.05	8	4.34 ± 0.20	3.054	p>0.05	p>0.05
	III.	4	4.93 ± 0.32			8	4.09 ± 0.26			p>0.05
Bilirubin (direkt) (mg/dl)	I.	8	0.11 ± 0.03			8	0.10 ± 0.02			p>0.05
	II.	8	0.12 ± 0.03	0.157	p>0.05	8	0.10 ± 0.02	0.035	p>0.05	p>0.05
	III.	4	0.10 ± 0.02			8	0.10 ± 0.01			p>0.05
Ca (mg/dl)	I.	8	11.25 ± 0.22			8	11.21 ± 0.22			p>0.05
	II.	8	10.60 ± 0.29	1.954	p>0.05	8	11.16 ± 0.17	1.045	p>0.05	p>0.05
	III.	4	11.13 ± 0.19			8	10.85 ± 0.19			p>0.05
Mg (mg/dl)	I.	8	2.10 ± 0.13			8	2.15 ± 0.08			p>0.05
	II.	8	2.29 ± 0.17	0.884	p>0.05	8	2.05 ± 0.09	1.190	p>0.05	p>0.05
	III.	4	1.98 ± 0.07			8	2.40 ± 0.26			p>0.05
P (mg/dl)	I.	8	5.89 ± 0.52			8	4.70 ± 0.44			p>0.05
	II.	8	5.26 ± 0.32	1.097	p>0.05	8	5.45 ± 0.37	0.890	p>0.05	p>0.05
	III.	4	4.93 ± 0.38			8	5.04 ± 0.38			p>0.05

^{abc} Aynı sütunda değişik harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

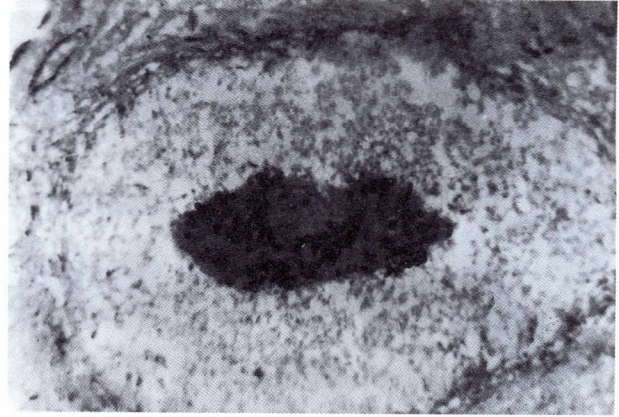
Mikolojik Bulgular: Etken inokulasyonundan sonraki 5. günde tüm köpeklerin burun eküvyonundan, enfekte kontrol grubundan nekropsisi yapılan köpeklerin sadece akciğerlerinden *A.fumigatus* izole ve tanıya edildi. Deneme sonunda, enfekte kontrol grubunda bulunan ve seröz burun akıntısı gözlenen 2 köpeğin burun eküvyonu ve akciğerlerinden etken izole edildi.

Nekropsi Bulguları: Etken inokulasyonun 5. gününde choncha nasalislerin özellikle inferiör bölümlerinde hiperemik alanlar ile mukus kitleleri belirlendi. Akciğerlerin medial loblarında yoğun olmak üzere hepatize alanlar ve küçük kanama alanları belirlendi. Deneme sonunda hem iki gruptaki köpeklerin hiçbirinde belirgin lezyon saptanmadı.

Mikroskopik Bulgular: Etken inokulasyonun 5. gününde nekropsisi yapılan köpeklerin sadece akciğerlerinde mikroskopik değişiklikler belirlendi. Akciğerlerde hiperemi ve kanama alanları ile pembe homojen renkli nekrotik odaklar görüldü. Bronş, bronşiyol ve alveol lumenlerinde yoğun nötrofil lökositler, fibrin kitleleri, ödem sıvısı, dökülmüş epitel hücreleri ve makrofaj hücreler dikkati çekti. Özellikle terminal bronşiyollere yakın dıştan fibröz dokuyla çevrili merkezde pembe homojen bir kitle, nötrofil lökositler, makrofaj ve az sayıdaki dev hücreleriyle nekrotik hücre artıklarından oluşan granülomatöz odaklar görüldü. Akciğerlerdeki bu granülomatöz odakların merkezlerinde uzun branşlı ve septumlu hifalardan oluşmuş etkene rastlandı (Şekil 1). Bu etkenler özellikle akciğerde birkaç alanda damarlara invaze olmuştu. Ayırıcı tanı için yapılan özel mantar boyamasında granülomatöz odaklarda ışınal tarzda dizilmiş *A. fumigatus*'a ilişkin hifalar tespit edildi (Şekil 2). Deneme sonunda her iki gruptaki köpeklerin hiçbir organında önemli patolojik bir bulguya rastlanmadı.



Şekil 1: Granulomatöz odak içerisinde mantar etkenleri. Akciğer, H x E, 400.



Şekil 2. Granulomatöz odak içerisinde *Aspergillus fumigatus* etkenine ait branşlı ve branşsız hifalar. Akciğer, Gridley, 200.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada klinik bulguların gelişimi bazı araştırmacıların (9,11,18) belirttiği gibi akut, orta dereceli ve geçiciydi. Mandal ve Gupta (11) keçilerde intratrakeal olarak oluşturdukları *A. fumigatus* enfeksiyonunda hematolojik parametrelerde önemli bir değişiklik kaydetmediklerini, akciğer ve nadiren de mediastinal lenf yumrusu ile karaciğerden etkeni izole ettiklerini belirtmişlerdir. Southard (16) bir köpekte doğal olarak oluşan bronkopulmoner aspergillozis olgusunun başlangıç aşamasında hematolojik parametrelerin normal, ancak hastalığın ilerleyen günlerinde şiddetinin artmasıyla ilişkili olarak lökositozis geliştiğini tespit etmiştir. Bu araştırmada ise etken inokulasyonunun sadece 5. gününde total lökosit sayısı ve ALP aktivitesinin yükselmesi, total protein, albumin ve globulin konsantrasyonlarının düşmesi histopatolojik incelemelerle desteklediği gibi hastalığın akciğerlerde şiddetli seyretmesine bağlı olabilir. Thurston ve ark. (18) tavşanları aerosol olarak *A. fumigatus* sporlarına maruz bırakmaya başlamalarından sonraki 1. günden, etkene maruz kalmanın tamamlanmasından sonraki 2 haftaya kadar akciğer dokularından etkeni izole ettiklerini belirtmektedirler. Ayrıca, mantar sporlarına maruz kalmadan sonraki 1. günden itibaren akciğerlerde hem makroskopik hem de mikroskopik değişikliklerin geliştiğini ve histopatolojik olarak akciğer dokusunda etkeni saptadıklarını vurgulamışlardır. Sekizinci güne kadar artan bu değişikliklerin daha sonra azalmaya başladığı ve etkene maruz kalmanın tamamlanmasından sonraki 20 günde ise akciğerlerde mikroskopik olarak önemli bir değişiklik belirlenmediği, bu durumun gelişiminde başta fagositoz sistemi olmak üzere akciğerdeki savunma mekanizmalarının önemli rol

oynadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada, etken inokulasyonun 5. gününde tüm köpeklerin burun eküvyon ve akciğerlerinden etken izole edilmesi ve akciğerlerde histopatolojik lezyonların gelişmesi, bu lezyonlarda etkenin varlığı belirlenmesine karşın deneme sonunda sağaltım grubundaki köpekler ve enfekte kontrol grubundaki 2 köpek hariç tüm köpeklerde etkenin mikolojik olarak izole edilmemesi ve histopatolojik olarak önemli lezyonun olmaması literatür bilgilerini (9,11,18) desteklemektedir. Bu durum, birçok araştırmacının belirttiği gibi (9,14,18) akciğer aspergillozis olgularında başta fagositoz sistemi olmak üzere akciğerdeki savunma mekanizmalarının önemli rol oynamış olabileceğini düşündürmektedir.

Triazol türevi geniş spektrumlu bir antifungal ilaç olan itrakonazol aspergillus türlerine karşı iyi bir aktiviteye sahip olduğu ve aynı grupta bulunan flukonazol ve ketokonazole göre daha etkili olduğu belirtilmektedir (7,8,15,17,19). Dallmann ve ark. (3) sistemik aspergillozis'li bir köpekte itrakonazol kullanımını takiben 3 hafta sonra hayvanın klinik tablosunun düzelmeye başladığı belirtilmesine karşın sağaltımı takiben 1 ay sonra böbrek arterinde gelişen kanamadan dolayı aniden öldüğünü tespit etmişlerdir. Watt ve ark. (19) ile Kelly ve ark. (8) sistemik aspergillozis belirledikleri köpeklerde itrakonazol kullandıkları, bu köpeklerden 1'inde tam iyileşme sağlanırken, diğerlerinin sağaltımdan uzun bir süre sonra farklı sebeplerden öldüklerini belirtmektedirler. Bu yazarlar (8,19) sistemik aspergillozis'li köpeklerde itrakonazol'un yaşamı uzattığını ifade etmektedirler. Çam ve ark. (2) damar içi yolla sistemik aspergillozis oluşturdukları köpeklerde itrakonazol'un etkinliğinin yaklaşık %60 olduğunu saptamışlardır. Buna ilaveten, laboratuvar hayvanlarında yapılan deneysel çalışmalarda (13,15) itrakonazol'un dokulardan *A. fumigatus*'u elimine ettiği ya da etkili bir şekilde sayısını azalttığı vurgulanmaktadır. Bu çalışmada, gruplarda zamanla dereceli olarak klinik belirtilerin düzelmesiyle birlikte sağaltım grubundaki köpeklerde daha hızlı bir iyileşmenin görülmesi, enfekte kontrol grubundaki 2 köpekten etken izole edilirken sağaltım grubundaki köpeklerden etkenin izole edilmemesi, oluşturulan akciğer aspergillozis'inde itrakonazol'un iyileşmeyi hızlandırdığı tezini desteklemektedir. Köpeklerdeki çeşitli mantar enfeksiyonlarının sağaltımında kullanılan itrakonazol'e bağlı olarak transaminaz aktivitelerinde artış, kusma, anoreksi (7,8,17) ve nadiren deri reaksiyonları (10,12) dışında herhangi bir yan etkiyle karşılaşmadığı belirtilmektedir. Bu çalışmada sağaltım grubunda ALT aktivitesindeki yükselme, MCHC değerindeki düşme, total protein, albumin ve globulin konsantrasyonlarının deneme öncesi değerlere dönme-

mesi, ayrıca bir köpekte vücudun çeşitli bölgelerinde deri lezyonlarının gelişmesi ilacın yan etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak; köpeklerde *A. fumigatus* ile intratrakeal olarak oluşturulan enfeksiyonun akciğerlerde sınırlı kaldığı, bu enfeksiyonun zamanla kendiliğinden iyileşmeye eğilim göstermekle beraber itrakonazol kullanımının iyileşmeyi hızlandırabildiği kanaatine varılmıştır. Belirtilen doz ve sürede itrakonazol kullanımının köpeklerde bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde değişiklikler ve deri lezyonlarına yol açabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Kaynaklar

1. Arda M. 1980. *Mikoloji*. Ankara: A Ü Basımevi, p. 185-191.
2. Çam Y, Atasever A, Uyanık F, Gümüşsoy KS, 2002. Köpeklerde deneysel *Aspergillus fumigatus* enfeksiyonu ve itrakonazol ile sağaltımı. *I. Veteriner Patoloji Kongresi*. Eylül, 12-13, Konya.
3. Dallman MJ, Dew TL, Tobias L, Doss R, 1992. Disseminated aspergillozsis in a dog with diskospondylitis and neurologic deficits. *J A V M A.*, 200: 511-513.
4. Düzgüneş O, Kesici T, Gürbüz F. 1983. İstatistik Metotları *A Ü Vet Fak Yay.*, 861. Ankara: A Ü Basımevi.
5. Espinebingroff A, Bartlett M, Bowden R, Chin NX, Cooper C, 1997. Multicenter evaluation of proposed standardized procedure for antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. *J Clin Microbiol.*, 35: 139-143.
6. Gilbert JJ, 1998. Fungal infections. Susan EA, Asa M. Eds. *The Merck Veterinary Manual*. Eighth Edition, Philadelphia, Pennsylvania: A Merck and Rhöne-Poulenc Company. p. 459-474.
7. Helt MC, Riviere JME, 1995. Antifungal and antiviral drugs. Adams R. Eds. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 7th ed., Ames: Iowa State University Press. p 855-883.
8. Kelly SE, Shaw SE, Clark WT, 1995. Long term survival of four dogs with disseminated *Aspergillus terreus* infection treated with itraconazole. *Aust Vet J.*, 72: 311-313.
9. Kurup VP, 1984. Interaction of *Aspergillus fumigatus* spores and pulmonary alveolar macrophages of rabbits. *Immunobiol.*, 166: 53-61.

10. Legendre AM, Rohrbach BW, Toal RL, Rinaldi MG, Grace LL, Jones JB, 1996. Treatment of blastomycosis with itraconazole in 112 dogs. *J Vet Intern Med.*, 1996, 10: 365.
11. Mandal PC, Gupta PP, 1993. Experimental aspergillosis in goats: clinical, haematological and mycological studies. *J Vet Med B.*, 40: 283-286.
12. Nichols PR, Morris DO, Beale KM, 2001. A retrospective study of canine and feline cutaneous vasculitis. *Vet Dermatol.*, 12: 255-264.
13. Patterson TF, Fothergill AW, Rinaldi MG, 1993. Efficacy of itraconazole solution in a rabbit model of invasive aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother.*, 37: 2307-2310.
14. Perez J, Mozos E, Lara FM, Paniagua J, Day MJ, 1996. Disseminated aspergillosis in a dog: an immunohistochemical study. *J Comp Pathol.*, 115: 191-196.
15. Schmitt HJ, Edwards F, Andrade J, Niki Y, Armstrong D, 1992. Comparison of azoles against aspergilli in vitro and in an experimental model of pulmonary aspergillosis. *Chemotherapy.*, 38: 118-126.
16. Southard C, 1987. Bronchopulmonary aspergillosis in a dog. *J A V M A.*, 190: 875-877.
17. Taboada J, 2000. Systemic mycoses. Ettinger SJ, Feldman EC eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat.* 5 th ed, Vol. 1, Philadelphia, London, Toronto: W. B. Saunders Company. p. 453-476.
18. Thurston JR, Cysewski SJ, Richard JL, 1979. Exposure of rabbits to spores of *Aspergillus fumigatus* or *Penicillium* sp: survival of fungi and microscopic changes in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Am J Vet Res.*, 40: 1443-1449.
19. Watt PR, Robins, GM, Galloway AM, O'boyle DA, 1995. Disseminated opportunistic fungal disease in dogs: 10 cases (1982-1990). *J A V M A.*, 207:67-70.
20. Willis AM, Martin CL, Stiles J, 1999. Sino-orbital aspergillosis in a dog. *J A V M A.*, 214: 1644-1647.

Yazışma adresi:

Yrd. Doç. Dr. Yücel ÇAM
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Sümer Mah. Barış Manço Cad.
38090 Kocasinan-Kayseri
Tlf: 0-352-3380004 / 1020
Faks: 0090-352-3372740
e-mail: yucelcam@erciyes.edu.tr