

بررسی حضور اشریشیا کلی، کوکسیدیا و کریپتوسپوریدیوم در مدفوع تعدادی از گوساله های زیر یکماه مبتلا به اسهال از قائم شهر و بابل و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله ها

دکتر صمد لطف اله زاده^{۱*} نوید ضیایی درونکلایی^۲ دکتر تقی زهرایی صالحی^۳ دکتر سید علی پوربخش^۴
دکتر محمدرضا مخبر دزفولی^۵ دکتر غلامرضا افشاری^۵

دریافت مقاله: ۲۸ مهر ماه ۱۳۸۱
پذیرش نهایی: ۲۰ فروردین ماه ۱۳۸۲

A study on the presence of *Escherichia coli*, *Coccidia* and *Cryptosporidium* in stool samples of under one month age diarrheic calves in Ghaemshahr and Babol and antibiotic sensitivity of isolates

Lotfollahzadeh, S.,¹ Ziaei Daroonkolai, N.,² Zahraei Salehi, T.,³ Poorbakhsh, S.A.,⁴ Mokhber Dezfouli, M. R.,⁵ Afshari, G.H. R.⁵

¹Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Islamic Azad University, Garmsar- Iran. ²Ardabil Veterinary Organization, Ardabil- Iran. ³Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran. ⁴Razi Institute of Karaj, Karaj- Iran. ⁵Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

Objective: Study on the presence of *Escherichia coli*, *Coccidia* and *Cryptosporidium* in stool samples of neonatal diarrheic calves in Ghaemshahr and Babol, simultaneous shedding of *Coccidia* and *Cryptosporidium* with *Escherichia coli* in these calves, serotyping of *Escherichia coli*, comparison of antibiotic sensitivity of K₉₉⁺ and other serotypes of *Escherichia coli*.

Animals: Ninety three diarrheic neonatal calves (under one month)

Procedure: Taking stool sample from rectum of the diarrheic calves, using standard methods for detection of *Coccidia* and *Cryptosporidium*, isolation of *Escherichia coli* carried out by using standard bacteriological methods and serotyping and antibiotic sensitivity test of isolates.

Statistical analysis: Results were reported by descriptive scales.

Results: *Escherichia coli* were isolated from 40.8% of diarrheic calves from which only one isolate were K₉₉⁺ (1.07%). In 12 samples two pathogens have been diagnosed simultaneously which in 6 samples *E. coli* and *Coccidia* (6.4%) and 6 samples *E. coli* and *Cryptosporidium* (6.4%) have been isolated. Isolated *Escherichia coli* were resistant to many antibiotics which routinely used in treatment of diarrhea and there was no significant difference between K₉₉⁺ and other isolates of *Escherichia coli* in antibiotic sensitivity test.

Clinical implications: From the results of this study it seems that K₉₉⁺ *Escherichia coli* is not a common isolate in neonatal diarrheic calves in Ghaemshahr and Babol. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 59, 2: 131-136, 2004.*

Key words: *Escherichia coli*, *Coccidia*, *Cryptosporidium*, Diarrhea, Calf.

Corresponding author email: samad@yahoo.com

هدف: بررسی حضور اشریشیا کلی، کوکسیدیا و کریپتوسپوریدیوم از مدفوع گوساله های مبتلا به اسهال زیر یکماه در دو شهرستان قائم شهر و بابل، همزمانی احتمالی جداسازی اشریشیا کلی با کوکسیدیا و کریپتوسپوریدیوم، سروتایپینگ ایزوله های اشریشیا کلی از نظر حضور فیمبریه و K₉₉ و گروه سرمی O، مقایسه حساسیت آنتی بیوتیکی این سروتایپ از اشریشیا کلی با سایر اشریشیا کلی های جدا شده در این دو شهرستان.

حیوانات: نود و سه گوساله زیر یکماه مبتلا به اسهال.

روش: نمونه برداری مدفوع از ناحیه رکتوم و انتقال به آزمایشگاه، بررسی نمونه ها از نظر حضور اشریشیا کلی و کریپتوسپوریدیوم توسط روشهای استاندارد، کشت نمونه ها بر روی محیط های کشت باکتریولوژیک استاندارد و جدا نمودن اشریشیا کلی، تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری های اشریشیا کلی جدا شده به روش Disk Diffusion Test، سروتایپینگ ایزوله های اشریشیا کلی.

تجزیه و تحلیل آماری: کلیه نتایج در جداول توصیفی و به صورت درصد بیان گردیده است.

نتایج: اشریشیا کلی از ۴۰/۸ درصد گوساله های مبتلا به اسهال جدا گردید که تنها یک مورد (۱/۰۷ درصد) از ایزوله های اشریشیا کلی K₉₉⁺ بود. همزمانی دفع اشریشیا کلی با کوکسیدیا در ۶ مورد (۶/۴ درصد) و همزمانی وقوع اشریشیا کلی با کریپتوسپوریدیوم در ۶ مورد (۶/۴ درصد) مشاهده گردید. در تست حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله های اشریشیا کلی به بسیاری از آنتی بیوتیک های رایج مورد استفاده در درمان اسهال مقاوم بودند و اختلاف معنی داری از نظر آنتی بیوگرام بین اشریشیا کلی با سایر ایزوله های اشریشیا کلی وجود نداشت.

نتیجه گیری: به نظر می رسد که اشریشیا کلی K₉₉⁺ ایزوله شایعی در گوساله های مبتلا به اسهال زیر یکماه در این دو شهرستان نمی باشد. ایزوله های اشریشیا کلی در دو شهرستان مورد مطالعه به بسیاری از آنتی بیوتیک های رایج مقاومت داشتند که احتمالاً به دنبال استفاده بی رویه از این آنتی بیوتیک ها بوده است و ممکن است در سایر نقاط نیز موضوع فوق صدق نماید. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۲، دوره ۵۹، شماره ۲، ۱۳۶-۱۳۱.

واژه های کلیدی: اشریشیا کلی، کوکسیدیا، کریپتوسپوریدیوم، اسهال، گوساله.

اسهال ناشی از اشریشیا کلی سالهاست که به عنوان اساسیترین اسهال در گوساله های نوزاد شناخته شده است (۱،۵،۹،۱۱). پنج گروه اصلی

(۱) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار-ایران.

(۲) کارشناس شبکه دامپزشکی استان اردبیل، اردبیل-ایران.

(۳) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران.

(۴) موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، کرج، کرج-ایران.

(۵) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران-ایران.

(* نویسنده مسئول samad@yahoo.com

از اشریشیا کلی مولد اسهال وجود دارد که بر اساس فاکتورهای حدت، تظاهرات بالینی، اپیدمیولوژی و سروتایپ های مختلف O:H متمایز می گردند.



عنوان عامل اصلی بروز اسهال می توانند مطرح باشند، از طریق روشهای آزمایشگاهی استاندارد تحت بررسی قرار می گرفتند. جهت کشت و جداسازی *E. coli* ابتدا مدفوع بر روی محیط EMB و مک کانکی آگار کشت داده می شد. در محیط EMB باکتری *E. coli* کلنی آبی- مشکی با تالو سبز متالیک ایجاد می نماید در صورتی که سایر گروههای آنروباکتریاسه کلنی های غیر سبز رنگ ایجاد می نمایند.

در محیط مک کانکی آگار کلنی ها بر اساس تخمیر لاکتوز تفریق می گردند که/شریشیالکی در زمره تخمیر کننده های لاکتوز می باشد. ایزوله های حاصل از مک کانکی بر روی محیط TSI آگار و اوره آگار انتقال داده شده و سپس از محیط های تفریقی EMB و IMVIC (لیزین) جهت تشخیص ایزوله های حاصل استفاده گردید (۵).

جهت تشخیص اووسیت های کوکسیدیا از روش مشاهده مستقیم پس از سانتریفوژ نمونه تازه، توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰ و ۴۰ استفاده گردید و برای تشخیص کریپتوسپوریدیوم در نمونه های مدفوع از روش رنگ آمیزی زیل نلسون اصلاح شده (Modified Zeil- Neelson) استفاده گردید. جهت تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله های *E. coli* حاصل از آزمایشات میکروبیولوژیک از روش تست حساسیت به دیسک (Disk Susceptibility Test) استفاده گردید. انتخاب دیسک های آنتی بیوتیکی بر اساس طیف و مکانیسم اثر و تجربه بالینی در درمان اسهال گوساله ها بود. دیسک های آنتی بیوتیکی مورد استفاده در این تحقیق شامل موارد زیر می باشند: پنی سیلین، آمپی سیلین، آموکسی سیلین، سفالکسین، سفازولین، سفالوتین، استرپتومایسین، جنتاماسین، کانامایسین، نئومایسین، اریترومایسین، نوپوسین، اکسی تتراسایکلین، تتراسایکلین، انروفلوکسازین، فلومکوئین، نالیدیکسیک اسید، کلرامفنیکل، فورازولیدون، کلیستین، تریمتوپریم + سولفامتوکسازول و لینکومایسین.

همچنین بذره های *E. coli* حاصله از دو جهت مورد ارزیابی سرولوژیکی یا سروتایپینگ قرار گرفتند:

الف- فیمبریه (F₅) K₉₉

ب- LPS (گروه سرمی O)

جهت ارزیابی ایزوله ها از نظر فیمبریه K₉₉ یا F₅ ابتدا جهت Expression فیمبریه فوق بذره های موجود بین ۵-۳ بار (حداکثر ۸ بار) در یک محیط می نیمال (محیط مینکا) پاساژ داده شدند، سپس بذره های به دست آمده با استفاده از آنتی سرم مربوط به فیمبریه F₅ با روش تست سریع روی لام (آگلوتیناسیون روی لام) سروتایپینگ شدند. سروتایپینگ LPS (گروه سرمی O) نیز با استفاده از آنتی سرم های پلی والان ۸-۱ (Polyvalent 1- Polyvalent 8) به طریق آگلوتیناسیون سریع انجام گردید.

نتایج

از مجموع ۹۳ رأس گوساله زیر یکماه مبتلا به اسهال، ۳۸ مورد (۴۰/۱۸ درصد)/شریشیالکی، ۱۰ مورد (۱۰/۷ درصد) کوکسیدیا و ۲۱ مورد

این گروهها عبارت اند از: /شریشیالکی آنروتوتونیک (EPEC)، آنروتوکسیژنیک (ETEC)، آنروتواینوسیو (EIEC)، آنروادهرن (EAEC) و آنروهوموژنیک (EHEC) (۱۵،۹،۱۰). /شریشیالکی آنروتوکسیژنیک مهمترین باکتری است که در گوساله ها سبب بروز اسهال می شود. کلونیزه شدن باکتری فوق در روده ها موقعی رخ می دهد که مقادیر کافی از باکتری به محل رسیده باشند و به سلول های پوششی اتصال یافته و تا حد زیادی تکثیر یابند. سوبه ETEC از باکتری /شریشیالکی بیشتر تمایل به ژوژنوم و ایلنوم داشته و با تولید دو نوع توکسین مقاوم به حرارت (ST) و حساس به حرارت (LT) سندروم اسهال آبکی شبیه وبا را ایجاد می نماید. این سوبه دارای پادگن های K₉₉، K₈₈ و F₄₁ بوده که توسط آنها به آنروسیت های روده کوچک اتصال می یابد. /شریشیالکی آنروتوکسیژنیک که در اکثر نقاط دنیا باعث بروز اسهال در گوساله ها می شود دارای پادگن K₉₉ بوده و گوساله های کمتر از ۴ روزه نسبت به ابتلا به این سوبه حساستر می باشند (۲،۵،۱۱).

در مطالعه ای که توسط Snodgrass و همکاران بر روی گوساله های ۲۸-۱ روزه صورت گرفت /شریشیالکی آنروتوکسیژنیک از ۸ مورد (۴ درصد) از موارد مبتلا به اسهال جدا گردید (۱۴). در بررسیهای مختلف این سوبه از /شریشیالکی ۳ الی ۱۰ درصد از موارد /شریشیالکی جدا شده را شامل می شود (۳،۱۳،۱۴). در برخی از کشورها E.coli K₉₉ را در ۴۰-۳۰ درصد گوساله های مبتلا به اسهال گزارش نموده اند (۱۰). در صورتی که در انگلستان رقمی بین ۶-۳ درصد گزارش گردیده است (۱۴).

مطالعه فوق جهت بررسی حضور /شریشیالکی کوکسیدیا و کریپتوسپوریدیوم در مدفوع تعدادی از گوساله های زیر یکماه مبتلا به اسهال در دو شهرستان قائم شهر و بابل، سروتایپینگ ایزوله های /شریشیالکی و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله ها انجام پذیرفت.

مواد و روش کار

در طی این تحقیق مجموعاً ۹۳ نمونه مدفوع از گوساله های مبتلا به اسهال ۳۰-۱ روزه از دو شهرستان بابل و قائم شهر در طی بهار و تابستان سال ۱۳۷۹ اخذ گردید. سعی شد نمونه های فوق از دامداریهای صنعتی و نیمه صنعتی و از تمامی نقاط جغرافیایی دو شهرستان فوق اخذ گردد. نمونه های فوق در لوله های استریل و در پوشدار جمع آوری می گردیدند. در هنگام نمونه برداری ابتدا اطلاعات مربوط به دام (سن، جنس، نژاد، تاریخ شروع اسهال) اخذ می گردید و سپس مشروط بر عدم استفاده از آنتی بیوتیک جهت درمان اسهال (به گواهی دامدار) نمونه مدفوع مستقیماً از رکتوم گوساله مبتلا اخذ می گردید. توزیع سنی نمونه های اخذ شده به ترتیب ۷-۱ روزه ۲/۱۶ درصد، گروه سنی ۱۴-۸ روزه ۱۴ درصد، ۲۱-۱۵ روزه ۴/۲۱ درصد و گروه سنی ۳۰-۲۲ روزه ۴/۴۸ درصد بود. نمونه ها پس از اخذ داخل یخدان حاوی یخ قرار داده می شدند و به سرعت به یخچال ۱۰-۴ درجه سانتیگراد منتقل می گردیدند. هر یک از نمونه ها قبل از کشت جهت جداسازی *E. coli* از نظر وجود کوکسیدیا و کریپتوسپوریدیوم که هر یک به



جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی گوساله های مورد مطالعه از نظر جدا شدن عامل اشریشیاکلی و یا دفع همزمان آن با کوکسیدیا و یا کرییتوسپوریدیوم و یا سایر عوامل غیر قابل شناسایی بر حسب جنس.

عامل	نر		ماده		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
اشریشیاکلی	۱۷	۱۸/۳	۲۱	۲۲/۶	۳۸	۴۰/۸
اشریشیاکلی + کوکسیدیا	۴	۴/۳	۲	۲/۱	۶	۶/۴
اشریشیاکلی + کرییتوسپوریدیوم	۲	۲/۱	۴	۴/۳	۶	۶/۴
بدون عامل باکتریایی و یا انگلی	۲۱	۲۲/۶	۱۷	۱۸/۳	۳۸	۴۰/۸

(۱۱، ۱۲، ۱۰، ۳). در مطالعه ای که Snodgrass و همکاران بر روی گوساله های ۲۸-روزه انجام دادند ۸ مورد (۴ درصد) اشریشیاکلی انتروتوکسیژنیک جدا نمودند. تحقیقات متعددی ETEC را از گوساله های ۲-۱۰ روزه جدا نموده اند (۱۲، ۱۱، ۱۰، ۳). در طی بررسیهای مختلف مشخص گردید که این سویه از باکتری اشریشیاکلی حدود ۱۰-۳ درصد از موارد اسهال ناشی از اشریشیاکلی در گوساله ها را شامل می شود (۱۴، ۱۳، ۳). در مطالعه ای که توسط Meyers و همکاران بر روی گوساله های پروراری انجام گرفت از ۱۰ درصد از نمونه های اخذ شده ETEC (K₉₉⁺) جدا گردید (۹). در مطالعه ای دیگر که اساس تشخیص و شناسایی ETEC در آن قابلیت رشد *E. coli* کپسولدار از نمونه های اخذ شده از ناحیه ایلئوم روده بود، ۷۰ مورد (۷/۲۶ درصد) *E. coli* جدا گردید که ۱۴ مورد (۶/۱۶ درصد) از ایزوله های جدا شده ETEC شناسایی گردیدند (۳). در برخی کشورها ETEC را از ۴۰-۳۰ درصد از گوساله های مبتلا به اسهال گزارش نموده اند (۱۰). در حالی که شیوع این سویه از اشریشیاکلی در انگلستان ۶-۳ درصد گزارش گردیده است (۱۴).

در تحقیق صورت گرفته در دو شهرستان قائم شهر و بابل از مجموع ۹۳ نمونه مدفوع اخذ شده از گوساله های مبتلا به اسهال ۳۸ مورد اشریشیاکلی که شامل ۴۰/۸ درصد از موارد کشت شده می باشد جدا گردید و از این میان تنها یک نمونه یعنی ۱/۰۷ درصد (F₅⁺) K₉₉⁺ یا به عبارتی ETEC بود. با مراجعه به جدول ۱ این موضوع مشخص می شود که بیشترین نمونه های اسهالی در این تحقیق متعلق به گروه سنی ۳۰-۲۲ روزه (۴۵ نمونه) بوده است و گروه سنی ۷-۱ روزه یکی از کمترین تعداد (۱۵ نمونه) را به خود اختصاص داده است. علت این مسئله می تواند رعایت بیشتر شرایط بهداشتی و مدیریتی توسط دامداران و مدیران دامپرورها در خصوص این گروه سنی از گوساله ها نسبت به گوساله های مسن تر باشد که مهمترین آنها خوراندن به موقع و به میزان کافی آغوز، رعایت بهداشت محیط نگهداری و جایگاه گوساله ها و کمتر در معرض قرار گرفتن گوساله ها با عامل بیماری به دلیل کم شدن بار جرم در محیط پرورشی و تغذیه مناسب و مرتب باشد. همچنین تعداد موارد مثبت اشریشیاکلی جدا شده از گروه سنی ۷-۱ روزه (۲ نمونه) از ۱۵ نمونه) نسبت به گروه سنی ۳۰-۲۲ روزه (۳۲ نمونه) از ۴۵ نمونه اخذ شده) کمتر می باشد که می تواند خود باز به دلیل حساسیت بیشتر دامداران نسبت به این گروه سنی از گوساله ها و درمان زود هنگام با آنتی بیوتیک در این گوساله ها نسبت به گروه سنی بالاتر باشد و به همین دلیل امکان جدا

جدول ۱- وضعیت گوساله های مبتلا به اسهال از نظر آلودگی به *E. coli* با توجه به گروههای سنی.

گروههای سنی	وضعیت آلودگی به <i>E. coli</i>		مثبت		منفی		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۷-۱ روزه	۲	۱۳/۳	۱۳	۸۶/۷	۱۵	۱۰۰	۳۸	۴۰/۸
۸-۱۴ روزه	۳	۲۳/۱	۱۰	۷۶/۹	۱۳	۱۰۰	۳۸	۴۰/۸
۱۵-۲۱ روزه	۱	۵	۱۹	۹۵	۲۰	۱۰۰	۳۸	۴۰/۸
۲۲-۳۰ روزه	۳۲	۷۱/۱	۱۳	۲۸/۹	۴۵	۱۰۰	۳۸	۴۰/۸
جمع	۳۸	۴۰/۸	۵۵	۵۹/۲	۹۳	۱۰۰	۳۸	۴۰/۸

(۲۲/۸ درصد) کرییتوسپوریدیوم جدا گردید. همچنین از کل نمونه های مورد مطالعه از ۱۲ مورد (۱۲/۸ درصد) دو عامل اشریشیاکلی همراه با کوکسیدیا و یا کرییتوسپوریدیوم به طور همزمان جدا گردید. توزیع سنی نمونه های اخذ شده نشان می دهد که بیشترین تعداد نمونه های اخذ شده در گروه سنی ۳۰-۲۲ روزه (۴۸/۴ درصد) و کمترین تعداد در گروه سنی ۱۴-۸ روزه (۱۴ درصد) قرار دارد. فراوانی نمونه های اخذ شده از سایر گروههای سنی نیز به ترتیب ۷-۱ روزه ۱۶/۲ درصد و ۲۱-۱۵ روزه ۲۱/۴ درصد بود. نتایج حاصل از این مطالعه از نظر وضعیت آلودگی به *E. coli* بر اساس گروههای سنی در جدول ۱ نشان داده شده است.

در ۶ مورد (۶/۴ درصد) دفع همزمان اشریشیاکلی و کوکسیدیا و در ۶ مورد دیگر (۶/۴ درصد) دفع همزمان اشریشیاکلی و کرییتوسپوریدیوم مشاهده گردید. جدول ۲ وضعیت دفع اشریشیاکلی و همچنین دفع همزمان عامل فوق با عوامل پروتوزوئری کوکسیدیا و کرییتوسپوریدیوم را بر اساس جنس نشان می دهد. از تعداد ۲۳ دیسک آنتی بیوتیک مورد استفاده در این تحقیق در ۸ مورد هیچ گونه پاسخی مشاهده نگردید (۱۰۰ درصد مقاوم).

موثرترین آنتی بیوتیک مشاهده شده در این تحقیق فلومکوتین بود که در مجموع نمونه های دو شهرستان (۳۸ نمونه مثبت) ۳۶ نمونه (۹۴/۶ درصد) نسبت به آن حساس بوده اند و در درجات بعدی نالیدیکسیک اسید با ۲۵ ایزوله حساس (۶۵/۷ درصد) و سولفامتوکسازول + تری متوپریم با ۱۸ ایزوله حساس (۴۷/۵ درصد) قرار دارند. نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله های *E. coli* جدا شده در مطالعه فوق در جدول ۳ نشان داده شده است. در سروتایپینگ انجام شده از مجموع ۳۸ ایزوله اشریشیاکلی در تحقیق فوق تنها یک ایزوله (۱/۰۷ درصد) از نظر حضور فیمبریه (F₅) K₉₉ مثبت بوده است و نمونه فوق نیز از نظر گروه سرمی با هیچ یک از آنتی سرم های پلی والان O موجود (Polyvalent 1 - Polyvalent 8) پاسخ مثبت نشان نداد. ایزوله فوق از گوساله نر هشتاین ۲۶ روزه ای که دفع همزمان کوکسیدیا نیز از طریق مدفوع داشته جدا گردید. از آنجایی که فقط یک ایزوله اشریشیاکلی در تحقیق فوق از لحاظ فیمبریه مثبت بود نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله فوق در جدول ۴ نشان داده شده است.

بحث

اسهال از مهمترین بیماریهای ماه اول زندگی در گوساله ها می باشد و اسهال ناشی از اشریشیاکلی از مهمترین اسهال های رایج هفته اول زندگی می باشد



جدول ۳- نتایج تست حساسیت آنتی بیوتیکی ایزوله های *E. coli* حاصله

	R		I		S		آنتی بیوتیک	
	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد		
۱	۱۰۰	۳۸	-	-	-	-	پنی سیلین	
۲	۱۰۰	۳۸	-	-	-	-	آمپی سیلین	
۳	۱۰۰	۳۸	-	-	-	-	آموکسی سیلین	
۴	۹۷/۳	۳۷	۲/۷	۱	-	-	سفالکسین	
۵	۱۰۰	۳۸	-	-	-	-	سفازولین	
۶	۱۰۰	۳۸	-	-	-	-	سفالوتین	
۷	۶۸/۴	۲۶	۲۸/۹	۱۱	۲/۷	۱	استرپتومایسین	
۸	۲۳/۶	۹	۳۴/۲	۱۳	۴۲/۲	۱۶	جنتامایسین	
۹	۷۸/۹	۳۰	۱۸/۴	۷	۲/۷	۱	کانامایسین	
۱۰	۷۸/۹	۳۰	۱۸/۴	۷	۲/۷	۱	نئومایسین	
۱۱	۱۰۰	۳۸	-	-	-	-	اریترومایسین	
۱۲	۱۰۰	۳۸	-	-	-	-	نووایوسین	
۱۳	۷۳/۶	۲۸	۲۱	۸	۵/۴	۲	اکسی تتراسایکلین	
۱۴	۶۵/۷	۲۵	۲۳/۲	۹	۱۰/۷	۴	تتراسایکلین	
۱۵	۲۸/۹	۱۱	۵۲/۷	۲۰	۱۸/۴	۷	انروفلوکساسین	
۱۶	۵/۴	۲	-	-	۹۴/۶	۳۶	فلومکوئین	
۱۷	۵/۴	۲	۲۸/۹	۱۱	۶۵/۷	۲۵	نالیدیکسیک اسید	
۱۸	۲۸/۹	۱۱	۴۲/۲	۱۶	۲۸/۹	۱۱	کلرامفنیکل	
۱۹	۲۸/۹	۱۱	۶۰/۵	۲۳	۱۰/۶	۴	فورازولیدون	
۲۰	۸۹/۴	۳۴	۱۰/۶	۴	-	-	کلیستین	
۲۱	۳۶/۸	۱۴	۱۵/۷	۶	۴۷/۵	۱۸	تری متوپریم + سولفامتوکسازول	
۲۲	۱۰۰	۳۸	-	-	-	-	لینکومایسین	

متعلق به یکی از گروه‌های فوق‌الذکر بوده که در این تحقیق شناسایی نگردیده و یا اینکه از جمله موارد/شریشیاکلی (F_5^+) K_{99}^+ غیر انتروتوکسیژنیک باشد و یا گونه بیماریزایی از/شریشیاکلی باشد که قبلاً مورد شناسایی قرار نگرفته است. در تحقیقی به هنگام بررسی بر روی یک مورد دیسانتری در انگلستان، نتایج منجر به شناسایی یک نوع بیماریزای *E. coli* گردید که قبلاً در این کشور شناسایی نشده بود (۱۰).

کلی باسیلوز انتروتوکسیژنیک متداولترین شکل کلی باسیلوز در گوساله‌ها در سن ۳ تا ۵ روزگی می‌باشد، و حتی زودتر از سن یکروزگی نیز می‌تواند بوقوع بپیوندد (۱،۱۲). اما در مطالعه فوق‌الذکر فوق از گوساله‌ای ۲۶ روزه و مبتلا به اسهال جدا گردید. شواهدی در دست است که نشان می‌دهد ترکیبی از عوامل به طور مثال ETEC و *روتا* ویروس‌ها ممکن است در گوساله‌های مسن تر ایجاد اسهال نمایند. *روتا* ویروس‌ها به طور سینرژیک کلونیزه شدن ETEC را در روده گوساله‌های مسن تر افزایش می‌دهند (۱۱).

شواهدی در دست است که آنتریت ویروسی می‌تواند نحوه حضور آنتروسیست‌ها را تغییر داده و حساسیت آنها را نسبت به چسبیدن *E. coli* بالا برده و بدین ترتیب ممکن است عفونتهای ETEC و بیماریهای روده‌ای ناشی از سایر عوامل عفونی را در گوساله‌های مسن تر تشدید نماید (۱،۲،۱۱). از آنجایی که به دلیل محدودیت امکانات بر روی عوامل ویروسی مولد اسهال

شدن باکتری مسببه در این گروه سنی کمتر گردیده است. با اینکه در این مطالعه سعی بر این بود که نمونه‌ها از گوساله‌هایی اخذ شود که آنتی بیوتیک دریافت نموده باشند ولی ملاک این مدعی گفته دامدار بوده است.

شیوع اسهال ناشی از ETEC (K_{99}^+) در سایر نقاط دنیا بین ۱۰-۳ درصد گزارش گردیده است و حتی در برخی نقاط مثل فرانسه، بلژیک، ژاپن و شمال آمریکا با فرکانس بیشتر گزارش گردیده است (۶،۱۰). در حالی که در مطالعه حاضر این عامل ۷/۱۰ درصد نمونه‌های جدا شده را تشکیل می‌دهد. با وجود اینکه تحقیق مشابهی در خصوص شیوع و یا وقوع اسهال ناشی از ETEC (K_{99}^+) در ایران جهت مقایسه وجود ندارد، اما از آنجائیکه Sherwood و همکاران علت پایین بودن شیوع ETEC (K_{99}^+) در انگلستان را وضعیت جغرافیایی این کشور و گسترش کمتر این عامل از سایر نقاط به این کشور دانسته‌اند، ممکن است دلیل مشابهی نیز شیوع کمتر این سویه از *E. coli* را در این دو شهرستان توجیه نماید.

همان گونه که در قسمت نتایج نیز عنوان گردید باکتری ETEC (K_{99}^+) جدا شده در این تحقیق با هیچ یک از سرم‌های پلی والان O موجود (Polyvalent 1- Polyvalent 8) پاسخ مثبت نشان نداد. گروه‌های سرمی O واجد فیمبره K_{99}^+ شامل O₁₀₁، O₆₄، O₂₀، O₈ و O₉ می‌باشند و با توجه به اینکه ۳ گروه سرمی O₁₀₁، O₆₄ و O₁₀₁ توسط آنتی سرم‌های پلی والان موجود در تحقیق موجود قابل شناسایی نبودند بنا براین ممکن است که سویه فوق



جدول ۴- حساسیت ایزوله اشریشیا کلی K_{99}^{+} نسبت به آنتی بیوتیک های مختلف.

	R	I	S	آنتی بیوتیک
۱	X			پنی سیلین
۲	X			آمپی سیلین
۳	X			آموکسی سیلین
۴	X			سفالکسین
۵	X			سفازولین
۶	X			سفالوتین
۷	X			استرپتومایسین
۸	X			جنتامایسین
۹	X			کانامایسین
۱۰	X			نئومایسین
۱۱	X			اریترومایسین
۱۲	X			نوویوسین
۱۳	X			اکسی تتراسایکلین
۱۴	X			تتراسایکلین
۱۵		X		انروفلوکساسین
۱۶			X	فلومکوئین
۱۷			X	نالیدیکسیک اسید
۱۸		X		کلرامفنیکل
۱۹		X		فورازولیدون
۲۰	X			کلیستین
۲۱	X			تری متوپریم + سولفامتوکسازول
۲۲	X			لینکومایسین

(۱۳). سایر محققین نیز در مطالعات خود چنین گزارشی را داشته اند (۱۰). محققین فوق علت چنین امری را ناشی از عدم شناسایی علل مسببه به طور مثال ویروس های شبیه کلسی ویروس ها، کریپتوسپوریدیوم و سایر موارد مثل مسایل تغذیه ای ذکر نموده اند (۱۰، ۱۳).

Bulgin و همکاران گزارش نمودند که سالمونلا و اشریشیا کلی در شرایط آزمایشگاه نسبت به برخی داروها خصوصاً داروهایی که عموماً در درمان اسهال استفاده می شوند مقاوم می باشند. در مطالعه E. coli. Bulgin جدا شده از گله های آیداهو حساسیت کمی نسبت به تتراسایکلین و نئومایسین داشته اند (۳). در مطالعه ای ایزوله های ETEC در یک مزرعه عموماً دارای مقاومت باکتریایی یکسان بوده ولی بین مزارع مختلف این الگوی مقاومت متفاوت بود (۱۴). اطلاعات اندکی راجع به مقاومت آنتی بیوتیکی ETEC موجود است ولی تحقیقات پیشین حاکی از عدم اختلاف معنی داری مابین ETEC و non- ETEC بوده است (۱۲).

همانگونه که در جدول ۳ مشخص می باشد باکتریهای E. coli جدا شده نسبت به بسیاری از داروهای مورد استفاده در درمان اسهال گوساله ها مقاوم گردیده اند که می تواند ناشی از استفاده بی رویه از این داروها باشد. مقاومت دارویی مشاهده شده در شهرستان بابل بیشتر از قائم شهر بود. همانگونه که از جدول ۳ مشخص می شود تنها دارویی که تقریباً به طور کامل (۹۵ درصد) بر روی ایزوله های E. coli جدا شده در این تحقیق مؤثر بوده است فلومکوئین می باشد که احتمالاً علت آن نیز استفاده کمتر دارویی فوق جهت درمان اسهال در دامهای بزرگ می باشد. نتایج ضعیف تست حساسیت دیسک در خصوص برخی از خانواده ها مثل پلی میکسین و آمینوگلایکوزیدها (نئومایسین، جنتامایسین، استرپتومایسین و کانامایسین) نیز ممکن است به علت فعالیت کاتیونیک شدید آنها بوده که باعث تقلیل سرعت انتشار این داروها در ژل آگار گردیده است (۷). همچنین با مقایسه جداول ۳ و ۴ مشخص می شود که نتیجه آنتی بیوگرام سوبه K_{99}^{+} با سوبه های non- ETEC اختلاف قابل توجهی ندارد.

References

۱. اسمیت، بی. پی. (۱۳۷۷): طب داخلی دامهای بزرگ، ترجمه گرجی دوز، م. صافی، ش. صیفی، ح. رئوفی، ا. افشاری، غ. ر.، علومی، م. و مخبر دزفولی، م. ر. انتشارات نوربخش، چاپ اول. صفحه: ۴۷۹-۴۵۰.
۲. قاسم زاده آسیایی، ر. (۱۳۷۸): اصول درمان اسهال گوساله ها، پایان نامه برای دریافت درجه دکتری عمومی دامپزشکی (D.V.M)، شماره ۱۷۳، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار. صفحه: ۴۵-۲۵.
3. Bulgin, M.S., Anderson, B.C., Ward, A.C.S. and Ewer mann, J. F. (1892): Infectious agents associated with neonatal calf disease in south western Idaho and eastern Oregon. JAVMA. 180: 1222.

از جمله روتا ویروس ها در این مطالعه تحقیقی صورت پذیرفته است، ممکن است نمونه ETEC جدا شده از گوساله ۲۶ روزه مبتلا به اسهال در این مطالعه نیز همراه با روتا ویروس و یا یکی از عوامل ویروسی دیگر مثل BVD، و کرونو ویروس که منجر به افزایش استعداد ابتلا به ETEC در گوساله فوق شده اند، بوده باشد.

Snodgrass علت اتیولوژیک ۱۵ مورد از موارد ابتلا به اسهال را به صورت ۲ عاملی و ۰/۳ درصد را ۳ عاملی گزارش نموده است (۱۵). Reynold و همکاران نیز در ۲۰ درصد گوساله های مبتلا به اسهال بیش از یک عامل عفونتهای روده ای جدا نموده اند (۱۳). Bulgin و همکاران نیز چند عاملی بودن اسهال را پدیده ای عادی بر می شمارند (۳، ۱۳). در تحقیق حاضر از ۳۸ نمونه اسهال که عامل اشریشیا کلی از آن جدا شده بود ۱۲ نمونه (۱۲/۹ درصد) توأم با یک عامل دیگر بوده اند (۶ نمونه همراه با کوکسیدیا و ۶ نمونه دیگر توأم با کریپتوسپوریدیوم) و ۲۶ نمونه به صورت تنها جدا گردیده اند. از بین ۹۳ نمونه تحت بررسی در این تحقیق ۳۸ نمونه (۴۰/۸ درصد) بدون عامل گزارش گردیدند. از آنجایی که امکان بررسی عوامل ویروسی و برخی عوامل باکتریایی مولد اسهال در این تحقیق نبود به همین دلیل تعداد مواردی که به صورت تنها E. coli از آنها جدا شده است و همچنین موارد بدون عامل به طور حتم کمتر از اعداد فوق خواهند بود. Reynold و همکاران نیز از ۳۱ درصد از موارد مورد بررسی عامل عفونتهای روده ای جدا نکردند



4. Daniel, R., Mathews, L. and Willshow, G. (1998): Isolation of *E. coli* O157 from a calf with dysentery. Vet. Rec. 143: 56.
5. Hirsh, D.C. and Zee, Y.C. (1999): Veterinary Microbiology. Blackwell Science, Inc. Massachusetts. PP: 563.
6. Janke, B.H. and Francis, D.H. (1990): Attaching and effacing infection as a cause of diarrhea in young calves. JAVMA.196: 897-901.
7. Lorian, V. (1996): Antibiotics in laboratory medicine. 4th ed. Wilkins Pub. PP: 432.
8. Meyers, L.L., Firehammer, B.D., Border, M.M. and Shoop, D.S. (1984): Prevalence of enteric pathogens in the feces of healthy calves. Am. J. Vet. Res. 45: 1544-1548.
9. Mohon, C.R. and Manusselis, G.J.R. (1995): Text book of Diagnostic Microbiology. W. B. Saunders Co. PP: 654.
10. Quinn, P.J., Markey, B.K. and Carter, G.R. (1994): Veterinary Clinical Microbiology. Wolf Publishing. PP: 387.
11. Radostitis, O.M., Blood, D.C. and Gay, C.C. (2000): Veterinary Medicine. 8th ed. Baillier Tindall, London. PP: 645.
12. Raisis, O.M. and Hodgson, J.L. (1998): Sensitivity to gentamycin of *Escherichia coli* isolated from calves: comparison of two laboratory methods. Vet. Rec. 142: 42-43.
13. Reynold, D.J., Morgan, J.H., Chanter, N., Jones, P. W. and Bridger, J.C. (1986): Microbiology of calf diarrhea in southern Britain. Vet. Rec. 119: 34-39.
14. Sherwood, D., Snodgrass, D.R. and Lawson, G.H.K. (1983): Prevalence of Enterotoxigenic *Escherichia coli* in calves in Scotland and northern England. Vet. Rec. 113: 208-212.

