

# جداسازی باکتری هموفیلوس سومنوس از جراحات پنومونی گاوهای ذبح شده در اطراف تهران

دکتر غلامرضا افشاری<sup>۱\*</sup>، دکتر ناهید اطمینانی<sup>۱</sup>، دکتر مصطفی بیاتی<sup>۲</sup>

دریافت مقاله: ۲۸ آبان ماه ۱۳۸۲  
پذیرش نهایی: ۹ اردیبهشت ماه ۱۳۸۳

## Isolation of *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*) from pneumonic lesions of slaughtered cattle in suburbs of Tehran.

Afshari, G.<sup>1</sup>, Atyabi, N.<sup>1</sup>, Bayati, M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran – Iran. <sup>2</sup>Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

**Objective:** Isolation of *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*) from pneumonic lesions in cattle.

**Animals:** Fifty - two samples of pneumonic lungs from slaughtered cattle.

**Procedure:** During a six -month period, 52 lung samples with pneumonia were collected from slaughterhouses in suburbs of Tehran for isolation of *H. somni*. Samples were cultured by standard bacteriological methods and isolated bacteria were identified according to Carter and Cole method by biochemical and enzymatic examinations. Antibiotic sensitivity test was performed on *H. somni* isolates.

**Results:** *H. somni* was isolated alone or with other bacteria from 4 (7.69 %) lungs with pneumonia. Antibiotic sensitivity test showed that the isolated bacteria were sensitive to Ceftiofur (Exenel) and Enrofloxacin but resistant to Trimethoprim, Penicillin and Streptomycin.

**Conclusion:** To the authors' knowledge this is the first report of *H. somni* isolation from respiratory system of cattle in Iran and further research is necessary about it. *J.Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 59, 4: 391-394, 2004.*

**Key words:** *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*), Bacteriology, Pneumonia, Antibiotic sensitivity test, Cattle.

**Corresponding author's email:** ghafshar@ut.ac.ir

هدف: جداسازی باکتری هیستوفیلوس سومنی (هموفیلوس سومنوس) از ریه های واجد جراحات پنومونی در گاو.

حیوانات: پنجاه و دو نمونه ریه واجد جراحیات پنومونی از گاوهای ذبح شده. روش: در مدت ۶ ماه ۵۲ نمونه ریه از کشتارگاه های اطراف تهران برای جداسازی هیستوفیلوس سومنی (هموفیلوس سومنوس) جمع آوری شد. نمونه ها با روش استاندارد باکتری شناسی کشت داده شدند و باکتریهای جدا شده بر اساس روش کارتر و کول (هموفیلوس سومنوس) شناسایی و تایید قرار گرفت. آنتی بیوگرام بر روی موارد جدا شده باکتری انجام شد.

نتایج: چهار نمونه (۷/۶۹ درصد) واجد آلودگی با هیستوفیلوس سومنی به تنهایی یا با سایر باکتری ها بود. آنتی بیوگرام نشان داد باکتری جدا شده در مقابل سفتیوفور (اکسنل) و انروفلوکساسین بسیار حساس و در مقابل تری متوپریم، پنی سیلین و استرپتومایسین مقاوم است.

نتیجه گیری: بر اساس اطلاعات موجود این مقاله اولین گزارش آلودگی دستگاه تنفس گاو با هیستوفیلوس سومنی در ایران می باشد. بنابر این بررسی های بیشتر در مورد آن ضرورت دارد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۳)، دوره ۵۹، شماره ۴، ۳۹۴-۳۹۱.

واژه های کلیدی: هیستوفیلوس سومنی (هموفیلوس سومنوس)، باکتریولوژی، پنومونی، آنتی بیوگرام، گاو.

هموفیلوس سومنوس باکتری گرم منفی، به شکل کوکوباسیل و پلی مورف است. رشد باکتری در محیط برین هارت (Brain Heart) همراه با ۱۰ درصد خون گاو و ۵ درصد عصاره مخمر در شرایط ۱۰ درصد دی اکسیدکربن با pH= ۷/۸ در ۳۷ درجه سانتیگراد انجام می شود اما محیط آگار شکلاته (Chocolate agar) محیط انتخابی برای جداسازی است (۳،۶).

هموفیلوس سومنوس یکی از عوامل ایجاد برونکو پنومونی باکتریایی در گوساله ها می باشد (۴، ۷، ۱۶، ۱۸). علاوه در بروز مننگوآنسفالیت ترومبو آمبولیک (۱۷)، سپتی سمی، میوکاردیت، اوتیت، سینوویت، کوژکتویت و ورم پستان دخالت دارد (۶، ۸، ۲۰). در ایران هموفیلوس سومنوس از دستگاه تناسلی گاوهای سالم و گاوهای دارای عفونت تناسلی جدا و شناسایی شده است (۱) ولی تاکنون آلودگی دستگاه تنفس گاو و گوساله مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف این مقاله پاسخگویی به سؤالات زیر

می باشد. چند درصد جراحات ریوی دارای آلودگی به هموفیلوس سومنوس است؟ موارد جدا شده در مقابل کدام داروی آنتی -باکتریال مقاومت نشان می دهند؟

## مواد و روش کار

در این بررسی به مدت شش ماه تعداد ۵۲ نمونه ریه گاو و گوساله های کشتار شده در کشتارگاههای تهران که دارای جراحات ریوی بودند، جمع آوری شد. معیارهای مورد نظر برای برداشت نمونه، مشاهده تغییر رنگ در ریه و فرورفتن قطعه ای از ریه به داخل آب و یاد ملامسه، تغییر قوام و کبندی شدن ریه بود. برای جلوگیری از آلودگی احتمالی هر نمونه در ظرف جداگانه قرار می گرفت و سعی می گردید تا هر چه سریعتر به آزمایشگاه بیمارستان آموزشی برسد.

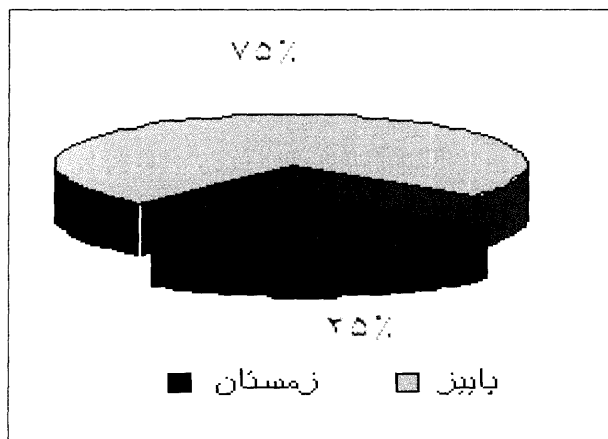
روش کشت نمونه و شناسایی باکتری: روش کشت و آزمایشهای بیوشیمیایی و آنزیمی برای تشخیص باکتری بر اساس روش کارتر انجام

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

(۲) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

\* نویسنده مسؤول ghafshar@ut.ac.ir





نمودار ۱- فراوانی موارد جدا شده بر حسب دوره مطالعه



تصویر ۱- پرگنه شیمی باکتری هموفیلوس سومنوس در محیط ژلوز خوندار

شد (۶). هر نمونه ریه دارای جراحات پنومونی بر روی ۵ محیط کشت اولیه شامل دو محیط ژلوز خوندار، دو محیط آگار شکلاته و یک محیط مک کانکی کشت داده می شد. از پلیت های زوج یک زوج پلیت در کندل جار در ۳۷ درجه سانتیگراد و مجاور  $CO_2$  و پلیت های دیگر در شرایط هوازی و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری می شد. هر ۲۴ ساعت یکبار تا ۷۲ ساعت محیط ها برای رشد باکتری مطالعه و پرگنه های ظاهر شده مورد بررسی قرار می گرفت. در صورت مشاهده پرگنه های مشکوک و پس از رنگ آمیزی گرم (Gram) کشت مجدد در محیط ژلوز خوندار و آگار شکلاته در مجاورت  $CO_2$  انجام می گرفت و بدین ترتیب کشت خالص باکتری به دست می آمد.

آزمایشات بیوشیمیایی و آنزیمی استاندارد برای تأیید نهایی باکتری انجام شد. آزمایشات بیوشیمیایی و آنزیمی شامل تست کاتالاز و اکسیداز با کلنی های هموفیلوس سومنوس روی کشت بلا آگار که از نظر کاتالاز منفی و از نظر اکسیداز مثبت بودند. هر دو تست نیرتات و واندول برای این باکتری مثبت بودند و باکتری از نظر تست حرکت، اوره آز و  $SH_2$  منفی بود. تولید اسید از قند گلوکز، مثبت اما با قندهای سوکروز، مانیتول و سالیسین منفی بود. آزمایشهای آنزیمی نیز شامل اورنیتین دکربوکسیلاز (decarboxylase) (Ornithine)، لیزین دکربوکسیلاز (Lysine decarboxylase) و آرژینین دهیدروژناز (Arginine dihydrogenase) بودند که باکتری هموفیلوس سومنوس بر تمام این موادی اثر بود.

### بحث

اولین بار باکتری هموفیلوس سومنوس از ریه گوساله شیرخوار تلف شده مبتلا به پنومونی جدا شد (۱۵) و سپس از کشورهای متعدد گزارش شده است (۲، ۵، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲).

در ایران این اولین گزارش از جداسازی و شناسایی هموفیلوس از ضایعات ریوی و دستگاه تنفس است و این امر نشان می دهد آلودگی به هموفیلوس سومنوس وجود دارد و نباید حضور آن را از نظر دور داشت.

Nakaya و همکاران در سال ۱۹۹۸ در ژاپن با بررسی ۷۰ ریه مبتلا به پنومونی از گوساله های کشتار شده این نتایج را به دست آوردند. آلودگی پاستور لامولتوسیدا ۶۴/۳ درصد، هموفیلوس سومنوس ۴۰ درصد و مانه میما همولیتیکا ۱۰ درصد گزارش گردید (۱۲). Ozdemir در سال ۱۹۹۲ در ترکیه با بررسی ریه های مبتلا به پنومونی، از ۴ مورد از ۱۳۰ نمونه ریه مورد مطالعه باکتری هموفیلوس سومنوس را جدا کرد (۱۴). در بررسی حاضر میزان جداسازی هموفیلوس سومنوس نسبت به کشورهای نامبرده کمتر است. از آنجایی که رشد این باکتری در محیط های کشت بسیار کند و مشکل می باشد به همین دلیل امکان از دست رفتن موارد مثبت وجود دارد. در

آنتی بیوگرام: در موارد مثبت جداسازی هموفیلوس سومنوس آنتی بیوگرام به کمک دیسک های داروهای آنتی باکتریال در دسترس شامل سفتیوفور (اکسنل<sup>R</sup>)، پنی سیلین، آموکسی سیلین، انروفلوکساسین، استرپتومایسین، جنتامایسین، اکسی تتراسیکلین و تایلوزین انجام گرفت.

نتایج  
در این بررسی از ریه های ۵۲ رأس گاو نمونه برداشت شد و در ۴ مورد (۷/۶۹ درصد) هموفیلوس سومنوس به طور خالص جداسازی و شناسایی شد (تصویر ۱). علاوه بر این باکتری، باکتری های دیگر نظیر کلی باسیل (*E. coli*),



جدول ۱- تعداد و فراوانی نسبی انواع باکتری جدا شده در این بررسی

باکتری	هموفیلوس سومنوس	کلی باسیل	استافیلو کوک	پروتئوس میرابیلیس	پاستورلا مولتوسیدا	مانهپما همولیتیکا	باسیلوس سرئوس	استرپتو کوک
تعداد	۴	۲۰	۸	۶	۶	۳	۱	۷
فراوانی نسبی درصد	۷/۶۹	۳۸/۴۶	۱۵/۳۸	۱۱/۵۳	۱۱/۵۳	۵/۷۶	۱/۹۲	۱۳/۴۶

## References

- طالب خان گروسی، م.، هورشتی، پ.، برین، ع.، حسنی طباطبایی، ع. و بلورچی، م. (۱۳۸۱): بررسی آلودگی دستگاه تولیدمثل گاوهای شیری به هموفیلوس سومنوس. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ۱۵۷(۱): ۳۰-۲۵.
- Baudet, M.N.; Chieze, C.; Espinasse, J. (1994): An example of clinical and microbiological monitoring of respiratory disease in young cattle, Its role in improving management of therapy. *Recueil de Médecine Vétérinaire* 170, 4/5: 209- 216.
- Biberstein, E.L. (1999) : *Haemophilus spp.* In *Veterinary Microbiology* Edited by Hirish, D.C. and Zee, Y.C., Blackwell Science Inc., Massachusetts, USA, PP: 144 - 147.
- Brayson D.G. (1991) : The inter-relationship between viral and bacterial pneumonias of calves. In proceeding of the Pfizer ltd and Royal veterinary college symposium on Respiratory disease in cattle and pig. Hawkshead campus of Royal veterinary college. PP: 39-45 .
- Bryson, D G; Ball, H J; McAliskey, M; McConnell, W; McCullough, S J (1990): Pathological, immunocytochemical and microbiological findings in calf pneumonias associated with *Haemophilus somnus* infection. *J.Comp .Path.* 103, 4: 433-445. 1990.
- Carter, G.R., John R.Cole, Ir. (1990): Diagnostic procedure in veterinary bacteriology and mycology. 5th edition , Academic Press Inc., San Diego, USA PP: 151 - 161.
- Jubb , K.L.F. Kennedy, P.C., Palmer, N. (1992): *Patology of domestic animals.* 4th edition Vol. 2 Pneumonia of calves .Academic press Inc, San Diego, USA. PP: 653- 673.
- Humphrey, L. R., Stephen, L. R. (1983): *Haemophilus somnus* : A review. *Vet. Bull.* 35, 11: 987-1004.
- Haziroglu, R; Erdeger, J; Gulbahar, M Y; Kul, O (1997) : Association of *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida* and *Haemophilus somnus* with pneumonia

ترکیه در بررسی دیگری، از ۱۰ درصد موارد باکتری فوق جدا شد (۹). محققین ژاپنی برای شناسایی سریع هموفیلوس سومنوس در کشورشان از یک کیت تجارتي به نام ID test HN-20 rapid با کارایی زیاد استفاده می نمایند (۱۳). در مقایسه روشهای کشت باکتری با PCR و روشهای ایمنو هیستوشیمی برای تشخیص عفونت در موارد پنومونی، روش PCR روش حساسی بوده است و موارد مثبت بیش از کشت بوده است (۱۹).

در ارتباط با آنتی بیوگرام به نظر می رسد در مواردی که پاسخ درمانی مناسب گرفته نمی شود ممکن است مقاومت باکتریایی نسبت به داروی آنتی باکتریال مطرح باشد و چنانچه اعلام گردید سفتیوفور در مقابل اکسی تتراسیکلین و تایلوزین ممکن است در مقابل عفونت هموفیلوس سومنوس ناتوان باشند که داروی بسیار مناسب است. و نتایج به دست آمده با یافته های وگل (Vogel) مشابه است (۲۱).

## تشکر و قدردانی

نگارندگان از آقایان مهندس حسنین، بهمن جوادی و سرکار خانم محقق به خاطر کمکهای فنی برای کشت باکتری و تایپ این مجموعه صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایند. هزینه انجام طرح تحقیقاتی به شماره ۲۱۸/۶/۶۵۹ از طرف معاونت پژوهشی دانشگاه تهران تأمین گردیده است که بدین وسیله شایسته قدردانی صمیمانه است.



- in calves . Deutsche Tierarztliche Wochenschrift. 104, 4:150-153.
10. Lancaster, M J; McGillivery, D J; Patterson, R M; Irwin, S (1984): Pneumonia associated with *Haemophilus somnus* in a calf. Aus. Vet. J. 61,8: 269.
  11. Martin, S. W., Harland, R.J., Bateman, K.G., Nagy, E. (1998): The association of titers to *H.somnus* and other putative pathogen with the occurrence of bovine respiratory disease and weight gain in feedlot calves. Can. J. Vet. Res. 62, 4: 262-267.
  12. Nakaya, I. Tamota, K. Ikeuchi, T., Torikai, Y. (1998): Bacterial isolates from pneumonic lungs of slaughtered calves. J. Jap. Vet. Med. Assoc. 51,3: 136-140.
  13. Nakaya, I. (1999): [ Rapid identification of *Haemophilus somnus* using a commercial kit]. J. Jap. Vet. Med. Assoc. 52, 6: 366-368.
  14. Ozdemir, V. (1992) [ Studies on the isolation of *Haemophilus somnus* from the normal and pneumonic lungs of cattle] Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi 7, 2: 49-62.
  15. Pritchard, D. G. ; Macleod, N. S. M ( 1977 ): The isolation of *Haemophilus somnus* following sudden deaths in suckler calves in Scotland. Vet. Rec. 100, 7: 126-127.
  16. Radostits O.M., Gay, c.c., blood, d.c., Hinchcliff, k.w. (2000): *Haemophilus somnus* disease complex. In Veterinary medicine 9th edition, w.b. Saunders, london. PP: 895-900.
  17. Stephens, L. R., Little, P. B., Wilkle, B. N., Barhum, D. A.(1981): Infectious thromboembolic meningo encephalitis in cattle: A review . JAVMA 178, 4: 378-384.
  18. Tegtmeier, C; Uttenthal, A; Friis, N F; Jensen, N E; Jensen, H E (1999): Pathological and microbiological studies on pneumonic lungs from Danish calves. J. Vet. Med. Series B 46, 10: 693-700.
  19. Tegtmeier, C.; Angen, O.; Ahrens, P. (2000): Comparison of bacterial cultivation, PCR, in situ hybridization and immunohistochemistry as tools for diagnosis of *Haemophilus somnus* pneumonia in cattle. Vet. Microbiol. 76, 4: 385-394.
  20. Timoney, J.F., Gillespie, J.H., Scott, F.W., Barlouh, J.E.(1988): Hagan and Bruner's microbiology and infectious disease of domestic animals 8th edition , Cornell university press, Ithaca, USA.
  21. Vogel, G; Nicolet, J; Martig, J; Tschudi, P; Meylan, M (2001): Pneumonia in calves: Characterization of the bacterial spectrum and the resistance patterns to antimicrobial drugs. Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde 143, 7: 341-350.

