شستشوی برونکوآلوئولار و یافته‌های باکتریولوژی آن در پنومونی گوساله

عبداله عراقی سوره[۱] محمدرضا مخبردزفولی[۱]* تقی زهرایی صالحی[۲] علی رضاخانی[۳] غلامرضا افشاری[۱] محمدقلی نادعلیان[۱] علیرضا باهنر[۴]

دریافت مقاله: ۲۲ شهریورماه ۱۳۸۴
پذیرش نهایی: ۴ آذرماه ۱۳۸۴

به منظور شناسایی عوامل باکتریایی دخیل در پنومونی گوساله و تعیین میزان حساسیت آنها به آنتی‌بیوتیک‌ها مطالعه مشاهده‌ای به روش مورد- شاهدی طراحی گردید و ۱۴ گوساله بیمار و ۷ گوساله سالم از نژاد هلشتاین، بین سنین ۱ تا ۳ ماه مورد اخذ مایع شستشوی برونکوآلوئولار قرار گرفتند و کشت باکتریایی مایع جمع‌آوری شده و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی عوامل باکتریایی جدا شده به عمل آمد. در مطالعه باکتری شناسای مایع جمع‌آوری شده برونکوآلوئولار، ۴ مورد (۲۸/۶ درصد) *Mycoplasma spp* در گوساله‌های بیمار و ۱ مورد (۱۴/۳ درصد) از گوساله‌های به ظاهر سالم، ۳ مورد (۲۱/۵ درصد) *Arcanobacterium pyogenes* از گوساله‌های بیمار و ۱ مورد (۱۴/۳ درصد) از گوساله‌های به ظاهر سالم جدا گردید. به علاوه *Fusobacterium necrophorum*، *urea (pasturella)*، *Actinobacillus*، *Neisseria mucosa*، *Staphylococcus aureus* و *Cardiobacterium hominis* یک مورد (۷/۵ درصد) از همگی گوساله‌های بیمار جداگردیدند. کاردیوباکتریوم هومینیس برای اولین بار در این تحقیق گزارش می‌گردد. تمامی باکتری‌های جدا شده بیشترین حساسیت را به فلورفنیکل نشان دادند. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۶، دوره ۶۲، شماره ۱، ۹۲-۸۷.

واژه‌های کلیدی: گوساله، پنومونی، شستشوی برونکوآلوئولار، باکتری، آنتی‌بیوگرام.

پنومونی آنزئوتیک یکی از شایع ترین بیماری‌های عفونی گوساله‌های شیری است(۶،۱۲). بیماری بیشتر در گوساله‌های ۱ تا ۵ ماهه اتفاق می‌افتد(۱۰) که بالاترین میزان بروز آن طی فصول پائیز و زمستان و در گوساله‌هایی است که در جایگاه‌های سرپوشیده پرورش می‌یابند(۶،۱۲) در همه گیری‌های شدید بیماری، ۸۰ تا ۹۰ درصد گوساله‌های گله می‌توانند مبتلا گردند اما معمولاً میزان مرگ ومیر کمتر از ۵ درصد می‌باشد(۶،۱۲). خسارت اقتصادی بیماری ناشی از مرگ ومیر، هزینه‌های درمانی، کاهش وزن و کاهش طول عمر اقتصادی مبتلایان بسیار قابل توجه است(۵،۶).

وقوع و شدت پنومونی آنزئوتیک بستگی به تأثیرات متقابل و پیچیده ما بین عوامل محیطی، مدیریتی، وضعیت ایمنی گوساله و عوامل عفونتی مختلف و متعدد دارد(۶،۱۰،۱۶،۳۳).

در بین عوامل عفونی مایکوپلاسماها و ویروس‌ها (عمدتاً BRSV,P۱۳ و IBR) در شروع ضایعات ریوی پیشگام بوده و سایر عوامل باکتریایی به صورت ثانویه با ایجاد برونکوپنومونی باعث وخیم‌تر شدن ضایعات ریوی می‌گردند(۴).

شستشوی برونکوآلوئولار، روشی سالم و ساده در تشخیص سریع پنومونی گوساله می‌باشد(۳،۸،۲۴،۳۰).

با توجه به اهمیت پنومونی در گوساله‌ها و عوارض بعدی آن، از این رو در این تحقیق جداسازی عوامل باکتریایی از ریه گوساله‌های مبتلا به پنومونی و گوساله‌های به ظاهر سالم با استفاده از روش شستشوی برونکوآلوئولار انجام گرفته است.

۱) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۲) گروه میکروب‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.
۴) گروه کنترل و بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران - ایران.
*) نویسنده مسؤول: تلفن: ۶۶۰۲۶۵۲۴-۲۱ نمابر: ۲۲۷۱۹۷۴۲-۰۲۱
Email: mokhberd@ut.ac.ir

BRONCHOALVEOLAR LAVAGE AND BACTERIOLOGICAL FINDINGS IN CALF PNEUMONIA

Araghi Soure, A.[1], Mokhber Dezfuli1, M. R.[1]*, Zahrayi Salehi, T.[2], Rezakhani, A.[3], Afshari, G.R.[1], Nadealian,M.Gh.[1], Bahonar, A.[4]

[1]Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran. [2]Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran. [3]Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran. [4]Department of Control Nutritional Hygiene, the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.

This study was done for identification of bacterial agents in calf pneumonia and determination of their antimicrobial susceptibility. Bronchoalveolar lavage was done on fourteen pneumonic and seven normal Holstein calves between 1-3 month old. In bacteriological examination on the fluid of bronchoalveolar lavage, *Mycoplasma spp*. were isolated from 4 (28.6%) pneumonic calves and 1 (14.3%) healthy calf. Furthermore, *Arcanobacterium pyogenes* was isolated from 3 (21.5%) pneumonic calves and 1 (14.3%) healthy calf. However, *Fusobacterium necrophorum*, *Actionobacillus* (*Pasturella*) *urea*, *Neisseria mucosa*, *Staphylococcus aureus*, *Cardiobacterium hominis* were isolated from one pneumonic calf. This is the first report of *Cardiobacterium hominis* from the lung of a pneumonic calf. All of the isolated bacteria had the highest susceptibility to florfenicol. ***J.Vet.Res. 62,1:87-92,2007***.

Key words: calf, pneumonia, bronchoalveolar lavage, bacteria, antibiogram.

***Corresponding author's email: mokhberd@ut.ac.ir , Tel: 021-66026522, Fax: 021-66026524**

مواد وروش‌کار

نمونه‌برداری: نمونه‌ها از یک واحد گاوداری شیری در اطراف تهران طی مدت ۶ ماه از ۱۴ گوساله بیمار و ۷ گوساله سالم اخذ گردید. گوساله‌های بیمار براساس وجود نشانه‌های بالینی سرفه، ریزش بینی و چشم، افزایش تعداد تنفس، کاهش اشتها، افسردگی و افزایش دمای مقعدی شناسایی گردیدند(۳،۱۷). برای اخذ مایع شستشوی برونکوآلوئولار از روش نمونه‌گیری شرح داده شده توسط فوگارتی(۱۱) استفاده گردید.

در ابتدا گوساله به نحوی مقید می‌گردد که سر و گردن در یک امتداد و تا حد ممکن به سمت بالا کشیده شود، آنگاه پس از پاک کردن بینی گوساله با گاز استریل، سوند بینی- معدی (Nasogastric catheter) اصلاح شده به طول ۴۰ سانتیمتر به درون مجرای پایینی حفره بینی هدایت می‌گردد تا وارد حنجره و بعد نای گردد که این کار موجب تحریک سرفه می‌گردد که نشانه مطمئنی از ورود سوند به درون نای است. سپس سوند اصلی نمونه‌برداری (Baker iejunostomy) به طول ۱۸۰ سانتیمتر از درون سوند محافظ به طرف ریه رانده شد. حرکت رو به جلو سوند نمونه‌برداری پس از رسیدن به نایژه هم قطر متوقف می‌گردد. در این موقعیت با تزریق ۵ میلی‌لیتر هوا از طریق دریچه یک طرفی واقع در انتهای بیرونی سوند، بخش قابل اتساع (cuff) لوله واقع در انتهای داخلی سوند، متسع و در نایژه تثبیت می‌گردد. سپس ۱۸۰ میلی‌لیتر نرمال سالین استریل که به دمای ۳۷ درجه سانتیگراد رسیده شده بود را به کمک ۳ عدد سرنگ ۶۰ میلی‌لیتری در مدت ۳ دقیقه از طریق لوله اصلی نمونه‌برداری به داخل ریه تزریق می‌گردید. پس از آخرین تزریق بلافاصله عمل مکش مایع تجویز شده انجام می‌گرفت که در صورت صحت عمل، حدود نصف مایع تزریق شده برگردانده می‌شد. مایع شستشوی برونکوآلوئولار پس از جمع‌آوری در سرنگ در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل می‌گردید.

جداسازی عوامل باکتریایی: ابتدا محیط کشت و معرف‌های آزمایش براساس دستورالعمل‌های ذکر شده تهیه گردید(۲۵). سپس با استفاده از آنس حلقه‌ای از مایع برونکوآلوئولار برداشت شده و در محیط‌های ژلوز خون‌دار (Merck) و مک کانگی آگار (Merck) کشت گردید. پلیت‌های ژلوز خون‌دار در شرایط هوازی و بی‌هوازی (انکوباتور حاوی ۷درصد دی‌اکسید کربن) و پلیت‌های مک کانگی آگار در شرایط هوازی به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت ویژگی‌های ظاهری پرگنه‌های باکتریایی رشد کرده مورد بررسی قرار گرفت و از پرگنه‌های رشده کرده، گسترش مستقیم تهیه و رنگ‌آمیزی گرم انجام شد. شناسایی نهایی باکتری‌ها با استفاده از محیط‌های کشت افتراقی شامل محیط اوره آز، سیترات، اندول،TSI، شیر تورنوسله، نیترات و محیط‌های قندی(Merck) و محیط حرکت و ژلاتین (Difco) و آزمایش‌های بیوشیمیایی شامل آزمایش کاتالاز، اکسیداز و KOH ۳ درصد براساس روش استاندارد آزمایشگاهی انجام گرفت(۱۵،۲۵).

برای جدا سازی عوامل مایکوپلاسمایی، ۱ میلی‌لیتر مایع شستشوی برونکوآلوئولار به ۵ میلی‌لیتر محیط PPLO براث(Difco) حاوی ۱۰درصد سرم اسب اضافه گردید و به مدت ۵ روز انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد حاوی ۷ درصد دی‌اکسید کربن نگهداری شد. طی این مدت در صورت تغییر رنگ محیط از فیلتر میلی‌پور (chromafil, CA-45/25 S) عبور داده شد و در PPLO آگار (Difco) کشت گردید و به مدت ۷ روز در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد حاوی ۷ درصد دی‌اکسید کربن نگهداری شد. رشد پرگنه‌های مایکوپلاسمایی توسط میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ۱۰ جستجو گردید.

مقاومت دارویی: برای تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جدا شده از روش انتشار دیسک Kirby-Bauer و بر روی محیط مولرهینتون آگار (Difco) استفاده شد(۲۵). دیسک‌های مورد آزمایش و غلظت بالقوه آنها (برحسب میکروگرم) شامل: اکسی تتراسایکلین(۳۰)، اریترومایسین(۱۵)، کوتریموکسازول(۲۵)، نیتروفورانتوئین(۳۰۰)، کلرآمفنیکل(۳۰)، آمپی‌سیلین(۱۰)، تری متوپریم(۵)، فلورفنیکل(۳۰) محصول شرکت ایران دیسک و لینکواسپکتین(۲۰۰و۱۵)، انروفلوکساسین(۵)، جنتامایسین(۱۰)، استرپتومایسین(۱۰) و پنی‌سیلین(۱۰) محصول شرکت پادتن طب بودند. تعیین حساسیت براساس جدول NCCLS صورت گرفت(۲۵).

نتایج

سن گوساله‌های مورد مطالعه اکثرا بین ۱ تا ۳ ماهگی قرار داشت. مهمترین نشانه‌های بالینی از درگیری دستگاه تنفسی شامل ریزش سروزی، موکوسی وموکوسی- چرکی از بینی، افزایش تعداد تنفس بیش از ۴۰ در دقیقه، وجود سرفه‌های خود به خودی و در مواردی افزایش دمای مقعدی بود. معمولا نشانه‌های قطع اشتها و به خصوص افسردگی مشاهده نگردید.

باکتری شناسی: در مطالعه باکتری‌شناسی مایع شستشوی برونکوآلوئولار ۱۴ گوساله بیمار، مجموعا از ۱۲(۸۵/۷درصد) مورد عوامل باکتریایی جدا گردید که ۴ (۲۸/۶درصد) مورد مایکوپلاسما و ۸(۵۷/۱درصد) مورد سایر باکتری‌ها بود. در ۲(۱۴/۳درصد) مورد از گوساله‌های بیمار جرم باکتریایی جدا نگردید. در مطالعه باکتری شناسی مایع شستشوی برونکوآلوئولار ۷ گوساله به ظاهر سالم ۱(۱۴/۳درصد) مورد مایکوپلاسما و ۱(۱۴/۳درصد) مورد باتری جدا گردید و از ۵(۷۱/۴درصد) مورد دیگر جرمی جدا نگردید(جدول۱).

حساسیت آنتی‌بیوتیکی: بیشترین میزان حساسیت آرکانوباکتریوم پیوژن به ترتیب به آنتی بیوتیک‌های فلورفنیکل، انروفلوکساسین، جنتامایسین، اریترومایسین، اکسی تتراسایکلین و تری متوپریم بود و نسبت به آمپی‌سیلین، لینکواسپکتین، پنی‌سیلین و کلرآمفنیکل حساسیت متوسط داشت. اکتینوباسیلوس اوره‌آ به فلورفنیکل، انروفلوکساسین، اریترومایسین، کوتریموکسازول، جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین به ترتیب حساسیت بالا و به کلرآمفنیکل حساسیت متوسط داشت. استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب به آنتی‌بیوتیک‌های فلورفنیکل،

جدول۱- عوامل جدا شده از گوساله‌های مبتلا به پنومونی و گوساله‌های به ظاهر سالم.

ردیف	باکتری جدا شده	گروه بیمار (تعداد ۱۴ مورد)		گروه ظاهرا سالم (تعداد ۷ مورد)	
		تعداد موارد	درصد	تعداد موارد	درصد
۱	*Mycoplasma spp.*	۴	۲۸/۶	۱	۱۴/۳
۲	*Arcanobacterium pyogenes*	۳	۲۱/۵	۱	۱۴/۳
۳	*Actiobacillus (Pasturella) urea*	۱	۷/۱۵	-	-
۴	*Neissseria mucosa*	۱	۷/۱۵	-	-
۵	*Staphylococcus aureus*	۱	۷/۱۵	-	-
۶	*Cardiobacterium hominis*	۱	۷/۱۵	-	-
۷	*Fusobacterium necrophorum*	۱	۷/۱۵	-	-
۸	عدم رشد	۲	۱۴/۳	۵	۷۱/۴

انرو فلوکساسین و جنتامایسین حساس و به بقیه آنتی بیوتیک‌ها مقاوم بود. نیسریاموکوسا به ترتیب به آنتی بیوتیک‌های فلورفنیکل، لینکواسپکتین، اکسی تتراسایکلین و اریترومایسین حساس بود. فوزوباکتریوم نکرو فوروم به ترتیب به آنتی بیوتیک‌های فلورفنیکل، لینکواسپکتین، لینکومایسین و جنتامایسین حساسیت بالا و به استرتپومایسین حساسیت متوسط داشت. کاردیوباکتریوم هومونیس به ترتیب به آنتی‌بیوتیک‌های فلورفنیکل و اریترومایسین حساس بود.

بحث

در بین عوامل عفونی ایجاد کننده پنومونی انزئوتیک گوساله، مایکوپلاسما در شروع ضایعات ریوی پیشگام بوده و سایر عوامل باکتریایی معمولا به صورت ثانویه با ایجاد برونکوپنومونی چرکی موجب وخیم‌تر شدن ضایعات ریوی می‌گردد(۴) مایکوپلاسماها پاتوژن اولیه دستگاه تنفسی در نظر گرفته می‌شوند که از مهمترین و معمولترین عوامل سبب شناختی پنومونی گوساله می‌باشد، *M.dispar*، *M.bovirhins* و *diversum Ureaplasma* از جمله مایکوپلاسماهایی هستند که به فراوانی از ریه گوساله‌های مبتلا جدا شده‌اند اما *M.bovis*، *M.bovi*genitalium، *M.*arginini، *M.canis* با فراوانی کمتر جدا شده‌اند(۲۶). در مطالعه‌ای که Laak و همکاران در سال ۱۹۹۲ برروی پنومونی گوساله‌ها انجام دادند، مایکوپلاسما دیسپار با فراوانی ۹۲ درصد، مایکوپلاسما بووی راینیس ۸۸درصد، اور آپلاسما دایورسوم ۸۰درصد، مایکوپلاسما بوویس ۳۰درصد، مایکوپلاسما ارجینینی ۱۶درصد، مایکوپلاسما کنیس ۱۲درصد ومایکوپلاسما بووی جنتالیوم با فراوانی ۴ درصد از ریه گوساله‌ها جداگردید(۱۷). از طرف دیگر میزان فراوانی جداسازی مایکوپلاسماها از بیماری‌های تنفسی راجعه بیش از موارد حاد بیماری است. در بررسی Thomas و همکاران در سال ۲۰۰۲، مایکوپلاسماها از ۷۸درصد موارد بیماری تنفسی راجعه و ۶۵درصد از موارد بیماری حاد جدا گردید. اما در این میان مایکوپلاسما بوویس با فراوانی ۵۰درصد از موارد حاد بیماری بیش از موارد راجعه با فراوانی ۳۵درصد جدا گردید(۳۰) که این اهمیت ارگانیسم مذکور در ایجاد پنومونی حاد گوساله را نشان می‌دهد(۲۳). مایکوپلاسما بوویس انتشار جهانی داشته و در دهه‌های اخیر به نواحی جدیدی مانند ایرلند و قسمت‌هایی ازآمریکای جنوبی وارد گردیده است و در اروپا مسئول حداقل ۱/۴ تا ۳/۴ تمامی پنومونی گوساله‌ها می‌باشد(۱۲،۱۹). با توجه به اینکه خسارت اقتصادی ناشی ازبیماری‌های تنفسی گاو در اروپا در حدود ۴۵ تا ۸۵ یورو برای هر گوساله شیری تخمین‌زده شده است اهمیت این ارگانیسم را بیش از پیش آشکار می‌سازد(۱۲). در ایران مطالعات اندکی در مورد فراوانی نوع مایکوپلاسماها در عفونت‌های تنفسی گوساله‌ها انجام گرفته، تنها یک گزارش از ساسانی و وندیوسفی در سال ۱۳۷۶ در خصوص جداسازی اورآپلاسما از ریه گوساله‌های کشتاری مبتلا به پنومونی وجود دارد. در تحقیق حاضر *Mycoplasma spp.* از ۳۸/۵درصد گوساله‌های مبتلا و ۱۴/۳ درصد گوساله‌های به ظاهر سالم جدا گردید که با نتایج حاصل از بررسی‌های Thomas درسال ۲۰۰۲ مطابقت دارد که ۸۴ درصد مایع شستشوی برونکوآلوئولار ریه گوساله‌های سالم عاری از مایکوپلاسما بود. لازم به ذکر است که روش شستشوی برونکوآلوئولار بهترین روش برای جداسازی عوامل مایکوپلاسمایی از ریه گوساله‌های مبتلا محسوب می‌گردد(۳۰). به طوری که در تحقیق Laak و همکاران در سال ۱۹۹۲ میزان جداسازی مایکوپلاسما دیسپار و مایکوپلاسما دایورسوم توسط شستشوی برونکوآلوئولار بیش از روش رسوب‌گیری از بینی است(۱۷).

آرکانوباکتریوم پیوژن: آرکانوباکتریوم پیوژن میزبان عادی مخاط بینی و حلق گاو، گوسفند وخوک می‌باشد(۲،۱۳) که به عنوان یک باکتری فرصت‌طلب جهت نفوذ در بافت و بیماریزایی نیاز به ضربه، استرس و یا حضور ویروسی و یا باکتری‌های دیگر دارد این ارگانیسم در پنومونی نکروتیک وچرکی گاو اغلب به عنوان عامل اولیه و یا ثانویه دخالت دارد(۲).

در بررسی حاضر آرکانوباکتریوم پیوژن با فراوانی ۲۱/۵درصد به عنوان ارگانیسم غالب از ۳ گوساله بیمار با ریزش مخاطی چرکی بینی، سرفه و دمای مقعدی ۴۰/۸ و ۴۰ درجه سانتیگراد از ۲ گوساله ماده و با ریزش سروزی بینی، سرفه، دمای مقعدی ۳۹/۴ درجه سانتیگراد از یک گوساله نر جدا گردید. در تعدادی از مطالعات گذشته نیز باکتری مذکور به عنوان شایع ترین ارگانیسم جدا شده از ریه گوساله های مبتلا به پنومونی گزارش شده است(۳،۲۰،۲۱). در بررسی مورد شاهدی که Vogel و همکاران در سال ۲۰۰۱ انجام داده است، آرکانوباکتریوم پیوژن را با فراوانی ۴۶درصد به عنوان شایع ترین ارگانیسم جدا شده از ۱۳ مورد گوساله جوان مبتلا به پنومونی گزارش شد ولی در بررسی ۹ گوساله شاهد جوان علی‌رغم جدا سازی پاستورلامولتوسیدا و استافیلوکوکوس سویس، هیچ مورد از باکتری مذکور در این گروه و حتی ۱۰ مورد گوساله شاهد از گروه مسن تر، مشاهده نگردید. اما در مطالعه حاضر یک مورد از آرکانوباکتریوم پیوژن از گوساله به ظاهر سالم با فراوانی ۱۴/۲۸ درصد جدا گردید. Khan و همکاران در سال ۱۹۹۷ در مطالعات خود بر روی گوساله‌های مبتلا به پنومونی، توانست آرکانوباکتریوم پیوژن را با فراوانی

۱۷درصد از ترشحات بینی جدا کند. از طرف دیگر نتایج حاصل از مقایسه دو روش نمونه‌برداری باکتریایی از دستگاه تنفسی تحتانی نشان داده است که روش ترانس تراکئال در ۷۱درصد موارد نسبت به روش شستشوی برونکوآلوئولار منفی و یا از لحاظ کشت مثبت باکتری کمتر می‌باشد، یعنی میزان آلودگی در روش نمونه‌برداری به روش شستشوی برونکوآلوئولار بیشتر است و الگوی باکتری شناختی واقعی دستگاه تنفسی تحتانی را منعکس نمی‌سازد(۲۷). بنابراین احتمال حضور ارگانیسم مذکور در ریه گوساله سالم به دلیل آلوده شدن سوند نمونه‌برداری در ناحیه حلقی وجود دارد.

پاستورلا: پاستورلا از شایع ترین باکتری‌هایی است که از دستگاه تنفسی گوساله‌های سالم و مبتلا به پنومونی جدا می‌گردد. در این بین پاستورلا مولتوسیدا به طور معمول متداول‌ترین عامل باکتریایی است که از گوساله‌های شیری مبتلا به پنومونی انزئوتیک جدا می‌گردد. که این احتمالا به بازتاب طبیعت فرصت‌طلب این ارگانیسم در رشد فراوان آن متعاقب آسیب ریه توسط باکتری‌هایی چون مانهیما (پاستورلا) همولیتیکا بر می‌گردد(۳۲). پاستورلامولتوسیدا در بررسی‌های Vogel و همکاران در سال ۲۰۰۱ به میزان ۳۲ درصد و در مطالعه Nakaya و همکاران در سال ۲۰۰۱ به میزان ۳۲ درصد و در مطالعه Nakaya و همکاران در سال ۱۹۹۸ به میزان ۶۴/۳درصد فراوان ترین ارگانیسم جدا شده از ریه‌های مبتلا بود. اما در بررسی Sedeek و همکاران در سال ۲۰۰۱ پاستورلامولتوسیدا به میزان ۸/۳درصد با فراوانی بسیار کم نسبت به بقیه باکتری‌ها از بینی گوساله‌های مبتلا جدا گردید در حالی که از ریه همان گوساله‌ها ارگانیسم مذکور جدا نگردید. گونه های مختلف پاستورلا قادرند به مدت چند روز فلور غالب دستگاه تنفسی فوقانی را به خود اختصاص دهند که با حالتی از کلونیزاسیون فعال مخاط بینی و دفع ارگانیسم همراه است اما این حالت کلونیزاسیون فعال احتمال ایجاد پنومونی در گوساله تحت تأثیر را تضمین نمی‌کند. در مطالعه‌ای که Magwood و همکاران در سال ۱۹۶۹ بر روی فلور باکتریایی بینی گوساله های سالم و مبتلا به پنومونی انجام داد رابطه‌ای بین باکتری‌های بینی و وقوع پنومونی انزوتیک در گوساله‌ها نیافت. در مطالعه حاضر نیز چون فقط نمونه‌برداری از ریه انجام گرفت در هیچ مورد از گوساله‌های بیمار و به ظاهر سالم پاستورلامولتوسیدا و یا مانهمیا (پاستورلا) همولیتیکا جدا نگردید. ولی گونه قبلی جنس پاستورلا یعنی اکتینوباسیلوس (پاستورلا) اوره‌آز از یک گوساله نر، با ریزش چرکی مخاطی از بینی و دمای مقعدی ۳۸/۱ درجه سانتیگراد جدا گردید. قبلا باکتری مذکور فقط از انسان و اکثرا از دستگاه تنفسی افراد سالم جدا می‌گردید گرچه گزارشاتی از وقوع سپتی سمی و مننژیت توسط همین ارگانیسم در انسان وجود دارد(۱۳). جالب توجه آنکه این ارگانیسم در مطالعه Barbur و همکاران در سال ۱۹۹۷ جزء عواملی بود که فراوانی کم از ریه گوساله‌ها جدا گردیده و به عنوان عامل خطر در کمپلکس بیماری‌های تنفسی قلمداد شده است(۹).

نیسریاموکوسا: نیسریا ارگانیسم مقیم غشاهای مخاطی انسان ودیگر حیوانات است که بعضی از گونه‌های آن فلور نرمال ناحیه بینی حلقی و دهانی حلقی بوده و معمولا بیماریزا نیستند(۱۳). در بررسی‌های Magwood و همکاران در سال ۱۹۶۹ نیز نیسریا به عنوان باکتری مقیم مخاط بینی حلقی گوساله‌ها گزارش گردید. در بررسی که Allen و همکاران در سال ۱۹۹۰ بر روی گوساله‌های پرواری انجام داد نیسریا به روش سواب‌برداری ناحیه بینی حلقی از ۱۱ گوساله بیمار جدا گردید اما به روش شستشوی برونکوآلوئولار فقط از ۲ گوساله شاهد جدا شد و موردی از ریه گوساله‌های بیمار جدا نگردید. که این باز حاکی از غیر بیماریزا بودن ارگانیسم مذکور است. در تحقیق حاضر نیز نیسریاموکوسا از ریه یک گوساله نر ۶۸ روزه با سرفه‌های متعدد، ریزش سروزی موکوسی بینی و دمای مقعدی ۳۹/۵ درجه سانتیگراد جدا گردید. اما به نظر می‌رسد حضور این ارگانیسم در مایع شستشوی برونکوآلوئولار ناشی از آلوده شدن سوند نمونه‌برداری در ناحیه بینی حلقی بوده و نقشی در بیماریزایی گوساله مذکور نداشته باشد.

فوزوباکتریوم نکروفوروم: از جنس فوزوباکتریوم فقط گونه نکروفوروم برای حیوانات بیماریزایی دارد(۲). در بررسی Nakaya و همکاران در سال ۱۹۹۸ که بر روی ریه‌های درگیر ۷۰ گوساله کشتاری انجام گرفته است ارگانیسم مذکور با فراوانی ۲۱/۴درصد به عنوان چهارمین باکتری پس از پاستورلا مولتوسیدا (۶۴/۳درصد)، هموفیلوس سومنوس (۴۰درصد) و مایکوپلاسماها (۳۴/۳درصد) گزارش گردیده است. در بررسی حاضر فوزوباکتریوم نکروفوروم با فراوانی ۷/۱۵درصد از یک گوساله نر با ریزش مخاطی بینی، سرفه و دمای مقعدی ۳۸/۴ درجه سانتیگراد جدا شده است. پنومونی حاصل از فوزوباکتریوم نکروفورم معمولا از عوارض دیفتری گوساله‌ها است و منشا حضور این ارگانیسم در ریه، جراحات نکروتیک دهان و حلق می‌باشد(۲۶). با توجه به نشانه‌های بالینی به خصوص دمای طبیعی بدن و عدم وجود توکسمی و بی‌اشتهایی به نظر نمی‌رسد مشکل تنفسی در این گوساله ها وابسته به حضور ارگانیسم مذکور در ریه باشد.

استافیلوکوکوس اورئوس: استافیلوکوکوس جزو فلور عادی مخاط ابتدای دستگاه تنفسی انسان و تمام حیوانات خون‌گرم می‌باشد. نفوذ و ایجاد جراحت توسط این ارگانیسم بستگی به وجود ضربه، تغییر فلور عادی دهان و بینی، کاهش ایمنی و حضور عفونت‌های ویروسی دارد(۲). در تعداد کمی از مطالعات استافیلوکوک‌ها با فراوانی کم جزو عوامل باکتری‌هایی بوده‌اند که از ریه گوساله های مبتلا به پنومونی جدا شده است(۵،۱۴،۲۱،۲۲). Barbur و همکاران در سال ۱۹۹۷ در مطالعات خود استافیلوکوکوس اورئوس را با فراوانی کم از ریه گوساله‌های مبتلا جدا ساخته و آن را به عنوان عامل خطر در کمپلکس بیماری‌های تنفسی دانسته است. در این تحقیق نیز ارگانیسم مذکور با فراوانی ۷/۱۵ درصد از یک گوساله ماده با سرفه‌های شدید، مبتلا به اسهال و دمای مقعدی ۳۹/۹ درجه سانتیگراد جدا گردید.

کاردیوباکتریوم هومینیس: جنس کاردیوباکتریوم تنها دارای یک عضو تحت نام *Cardiobacterium hominis* می‌باشد که در ابتدا به عنوان

پاتوژن انسان در سال ۱۹۶۲ شناسایی شد. ارگانیسم مذکور فلور نرمال دستگاه تنفسی انسان محسوب می‌گردد(۱۳). حضور کاردیوباکتریوم هومینیس در ریه یک گوساله ماده با ریزش سروزی بینی، سرفه و دمای مقعدی ۳۸/۶ درجه سانتیگراد برای اولین بار در این تحقیق گزارش می‌گردد.

References

۱. ساسانی، ف.، وندیوسفی، ج.(۱۳۷۶): بررسی پاتولوژیک و میکروبیولوژیک ضایعات ریوی گوساله‌ها و اولین گزارش از جداسازی اورآ پلاسما در ایران، مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، ۵۲(۱): صفحات: ۲۷-۲۳.

۲. شیمی، ا.(۱۳۷۶): باکتری شناسی دامپزشکی و بیماری‌های باکتریایی، موسسه نشر جهاد، صفحات: ۳۵۵-۸۶.

3. Allen J. W., Viel, L., Bateman, K. G., Rosedal, S., Sheven, P. E. and Physick-sheard, P.(1991) The microbial flora of the respiratory tract in feedlot calves : Associations between nasopharyngeal and bronchoalveolar lavage culture. Can. J. Vet. Res. 55:341-346.
4. Andrews, A. H., Blowey, R. W., Boyd, H. and Eddy, R. G.(2004) Bovine Medicine Disease and husbandry of cattle, 2ndEd., Blackwell Science, pp.239-248.
5. Aslan,V., Maden, M., Erganis,O., Birdane, F.M. and Corlv,M.(2002) Clinical efficacy of Florfenicol in the treatment of calf respiratory Tract in infection.Vet. Quart. 24:35 - 39.
6. Bryson, O. G.(1985) Calf pneumonia. in: symposium on respiratory disease. Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.1:237-257.
7. Bryson, D.G., McFerran, B., Ball, H.J. and Neill, S.D.(1978) Observations on outbreaks of respiratory disease in housed calves- (1)Epidemiological, clinical and microbiological findings. Vet. Rec. 103:485-489.
8. Birdane, F. M., Aslan, V.(2002) The importance of bronchoalveolar lavage fluid examination in the diagnosis of respiratory tract in calves, Vet. Bilimleri Dergisi. 18:41-51.
9. Barbar, E.K., Nabbut, N.H., Hamadeh, S.K. and Al-Nakhli, H. M.(1997) Bacterial identity and characteristics in healthy and unhealthy respiratory tracts of sheep and calves, Vet. Res. Commun. 21:421-30.
10. Curtis, C. R., Erb, H. N., White, M.E.(1988) Descirptive epidemiology of calf hood morbidity and mortality in New York Holstein herds. Pre. Vet. Med. 5:293-307.
11. Fogarty, U., Quinn, P. J., Hannan, J.(1983) Bronchopulmonary lavage in calf :A new technique. Irish. Vet. J. 37:35-38.
12. Geraert, D.(2006) The importance of mycoplasma bovis in bovine respiratory Disease, Tijdschr Diergeneskd. 131:124-126.
13. Howard, B. G., Klaas, J., Rubin, S. J., Weissfeld, A. S. and Tilton, R.C.(1987) Clinical and Pathogenic Microbiology. The C.V. Mosby Company.
14. Khan, A., Khan, M.Z.(1997) Bacteria Isolated from natural cases of buffalo and bovine neonatal calf diarrhea, pneumoma and pneumoenteritis. Veterinarski Archiv. 67: 161-167.
15. Krieg, N. R., Holt, J.G.(1983) BERGEY'S MANUAL of systemic Bacteriology. williams and wilkis.
16. Kiorpes, A.L., Butler, D.G., Dublezig, R.R., Beck, K. A. (1988) Enzootic pneumonia in calves: clinical and morphologic Features. Compendcontin Edue Pract Vet. 10: 248-260.
17. Laak, E. A., Noordergaaf, J. H., Dieltyes, R. R. J. (1992) Preralence of mycoplasmas in the respiratory tract of pneumonic calves. J. Vet. Med. Series B. 39: 553-562.
18. Magwood, S.E., Barnum, D.A., Thomson, R.G. (1969) Nasal bacterial Flora of calves in healthy and in pneumonia-prone herds. Can. J. Med. 33: 237-243.
19. Nicholas, R. A., Ayling, R.D.(2003) Mycoplasma bovis: disease, diagnosis, and control. Res.Vet. Sci. 71: 105-112.
20. Nakaya, I., Tomita,K., Ikenchi, T., Trikai, Y. (1998) Bacterial isolates From pneumonic lungs of slaughtered calves. J. Jap. Vet. Medical Assoc. 51: 136-140.
21. Ozturk, G., Ozcan, C., Kalender, H.(1996) Pathological and bacteriological Studies on Bovine Pneumonia Lungs at Elazig Meta and Fish Organization Abattoir, Pendik Veteriner (Mikrobiyoloji Dergisi). 27: 163-174.
22. Pijoan Aguade, P., AGUILAR Romero, F. and Morales Alvarez, J. F.(1999) Characterization of Pneumonia in dairy calves in Baja

California,Mexico. Veterinaria Mexico. 30: 149-155.

23. Pretto, L. G., Muller, F. C., Freitas, J. C., Mettiforg, E., Buzinheni, M. and yamaguti, M. (2001) Mycoplasma bovis isolation From Calves with Pneumonia. Veterinaria Noticias. 7: 69-73.
24. Pringle, J. K. (1992) Ancillary testing for the ruminant respiratory system. Vet. Clin. N. Am. Food Amin. Pract. 8: 243-256.
25. Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B.K. and Carter,G.R. (1994) Clin. Vet. Microbiol. WOLFE.
26. Radostitis, O. M., Gay, C.C., Blood, D.C. and Hinchcliff, K. W. (2000) Veterinary Medicine, 9thEd., W. B. Saunders Company.
27. Schreiber, P., Thomas, A., Linden, A., Mainil, J. and Collarb, A. (2000) Comparison of bacteria isolated from lower airway fluids obtained by transtracheal route or bronchoalveolar route in calves. Annales de Medecine Veterinarie. 144: 173- 177.
28. Sedeek, S. R., Thabet, A.E. R. (2001) Some studies on bacterial causes of pneumonia in cattle in Assiut Governorate. Assoc. Vet.Medical J. 45: 243-255.
29. Thomas, A., ball, H., Dtiziire, I., Trolin, A., Bell, C., Mainal, J. and Linden, A.(2002) Isolation of mycoplasma. species form the lower respiratory tract of healthy cattle and with respiratory disease in Belgium. Vet. Rec. 151: 472-476.
30. Thomas, A. Dizier, I., Trolin, A., Mainil, J. and Linden, A. (2002) Comparison of sampling procedures for isolating pulmonary mycoplasmas in cattle. Vet. Res. Commun. 26: 333-339.
31. Vogel, G., Nicolet, J. Martig. G., Tschudi, P. and Meplan, N. (2001) Bacterial flora isolated from the lungs of calves with pneumonia and their resistance patterns to antimicrobial drugs. Schweizer Archiv Fur Tierheil Kunde. 143: 341-350.
32. Vestweber, J., Jean, G. S.(1997) Bovine respiratory disease update. Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract. 13: 367-429.
33. Waltner - Toew, S. D., Martin, S. W., Meek, A. H. (1986) Dairy calf management, morbidity and mortality in Ontario Holstein herds. IV. Association of management with mortality. Prev. Vet. Med. 4: 159-171.