شیوع سپتی‌سمی ناشی از سودوموناس آئروژینوزا در گله گوشتی در استان مازندران

سیدمحمد حسینی[۱*]، تقی زهرائی‌صالحی[۲]، مجتبی شالیزار[۳]، مرتضی شعبانی[٤]، عارف ابراهیم‌زاده[٤]، شیلا امیدظهیر[٥]

چکیده

سودوموناس آئروژینوزا معروف‌ترین گونه سودوموناس است که می‌تواند به صورت موضعی و سیستمیک در طیور جوان و رو به رشد دیده شود. میزان شیوع و مرگ و میر ناشی از سودوموناس آئروژینوزا متفاوت و بین ۱۰۰-۲٪ است اما معمولا بیشترین تلفات در حدود ۱۲-۲٪ در پرندگان بسیار جوان است. این بیماری در گله‌های گوشتی نژاد راس ۱۰-٦ روزه با علائم بالینی خواب، بستن چشم، کراتیت خفیف و التهاب نزله‌ای بینی و علائم کالبدگشایی التهاب کیسه‌های هوایی، احتقان و تورم کلیه، رسوب اورات در حالب و تورم مقعد با تلفات ٦ درصدی و ابتلا ١٦,٢ درصدی مشاهده گردید. در بررسی کشت میکروبی از نمونه‌های اخذ شده مشخص گردید عامل بیماری باکتری متحرک گرم منفی است. در محیط کلنی‌های مشکوک، متمایل به سبز دیده شد و بوی شبیه میوه روی آگار خوندار بتا همولیز مشخص شد که در کنار علائم بالینی به سودوموناس مشکوک گردیدیم. تمامی جدایه‌ها بر اساس ویژگی‌های فنوتیپ باکتریولوژیک متداول تعیین هویت و در نهایت سودوموناس آئروژنوزا تشخیص داده شد.

واژگان کلیدی: *سودوموناس آئروژینوزا، گله گوشتی نژاد راس، التهاب نزله‌ای*

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۲

مقدمه

سودوموناس باکتری گرم منفی، متحرک، بدون اسپور و میله‌ای شکل است که معمولا به تنهایی و یا در زنجیرهای کوتاه قرار می‌گیرد. سودوموناس جرمی است همه جایی و اغلب در پوشش گیاهی پوسیده، خاک، آب‌های زیر زمینی و سایر محیط‌های مرطوب حضور دارد. این عامل مهم پاتوژنی فرصت طلب است که می‌تواند به طور گسترده‌ای طیف وسیعی از عفونت‌ها به ویژه در موارد نقص ایمنی را ایجاد نماید(۲و۷).

سودوموناس آئروژینوزا دارای نیازهای تغذیه‌ای حداقل می‌باشد و می‌تواند طیف وسیعی از شرایط محیطی و کمی آب و غذا تکثیر نماید(۳). این ارگانیسم هوازی و اغلب به بسیاری از مواد ضد میکروبی مقاوم است(۷و۱۳). بیماری در ماکیان، اردک، بوقلمون و قرقاول بروز می‌نماید و اگرچه این پرندگان در تمام سنین نسبت به بیماری حساس‌اند اما پرندگان جوان، حساس‌تر از پرندگان مسن می‌باشند(۸).

این پاتوژن می‌تواند تخم مرغ های بارور را مورد تهاجم قرار داده و باعث مرگ جنین و ایجاد یک بیماری موضعی یا سیستمیک از جوجه‌های تازه از تخم درآمده نماید. گونه‌های خطرناک این باکتری می‌توانند باعث اسهال، کم آبی، تنگی نفس، سپتی سمی و مرگ شود(۱۳). اگر شرایط بهداشتی یک واحد مرغداری در سطح پایین باشد، باکتری از گله آلوده به گله حساس منتقل می‌شود. شرایط استرس‌زا و بیماری‌های همزمان، بخصوص آنها که باعث تضعیف ایمنی می‌شوند، اثرات بیماری‌زایی این باکتری را افزایش می‌دهند(۸). روش معمول برای تشخیص آلودگی‌های باکتریایی مانند سودوموناس آئروژنوزا، شامل کشت میکروبی، بررسی و آنالیز مرفولوژی و تست‌های بیوشیمیایی است(۱۸). این روش‌ها پر زحمت‌اند و چند روز طول می‌کشد تا کامل شوند. سودوموناس در محیط کشت آگار خون دار در اثر فعالیت فسفولیپاز c بتاهمولیتیک می‌باشد. فسفولیپاز سم قوی است که می‌تواند موجب آسیب بسیاری از سلول‌ها از جمله گلبول‌های قرمز شود(۱۳).

۱- استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.
Dr_hosseini2323@yahoo.com
۲- استاد گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران.
٤- دانشجوی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.
٥- دانش آموخته دکتری تخصصی بهداشت و بیماریهای آبزیان دانشگاه تهران، تهران، ایران.

این سموم موجب آسیب سلولی در بدن، در نتیجه ادم، خونریزی، و نکروز بافت می‌گردد. سودوموناس برای تکثیر منتظر ایجاد فرصت در کنار سایر باکتری‌های است. ترکیبی تکثیر چند باکتری در کیسه زرده اغلب باعث مرگ جوجه‌ها در معرض سودوموناس آئروژنوزا شود(١٦). در برخی از موارد جداسازی سودوموناس تنها زمانی که در عفونت مخلوط شرکت کنند و یا در شرایط نارسایی دفاع بافتی قرار دارند مشکل زا خواهند بود.

سودوموناس برای جنین مرغ و جوجه با سن کم (١٥-٢ روز) خطرناک است امّا بر جوجه گوشتی(٨-٤ هفته) اثر کمی دارد. همچنین بهداشت محیط در جلوگیری بسیار مفید است و تولید انواع سموم و آنزیم هایی که به بیماری‌زایی کمک می‌کند، همچنین سودوموناس از جوجه‌های مبتلا به بیماری تنفسی جدا شده است و در جوجه‌های گوشتی (٨-٤ هفته) که به صورت آزمایشی تلقیح شدند مرگ و میر کمی ایجاد می‌کند. سپتی سمی ناشی از سودوموناس در پرندگان توسط برخی از محققین گزارش شده است(١١و١٢). سودوموناس آئروژنوزا یکی از شایع‌ترین پاتوژن در پرندگان است و تولید انواع سموم و آنزیم‌هایی که به بیماری‌زایی کمک می‌کنند، همچنین سودوموناس استودزری از جوجه‌های مبتلا به بیماری تنفسی جدا شده است و در جوجه‌هایی که به صورت آزمایشی تلقیح شدند مرگ و میر کمی ایجاد کرد اما سودوموناس فلورسانس یکی از عوامل مرگ و میر در جنین بوقلمون بوده و ممکن است بابیماری‌های تنفسی در جوجه‌ها و بوقلمون همراه شود(٩و٥).

این بیماری ممکن است در سینوس زیر حدقه‌ای، کیسه‌های هوایی موضعی گردد و یا به صورت سلولیت و یا یک بیماری سپتی‌سمی موثر در بسیاری از اندام‌ها و بافت‌ها باشد. میزان شیوع و مرگ ومیر آن متفاوت و بین ١٠٠-٢٪ است اما معمولا بیشترین تلفات در حدود ١٢-٢٪ در پرندگان بسیار جوان است. این عفونت ممکن است از طریق زخم های پوست، یا واکسن آلوده، خوردن تخم مرغ، تلقیح، آلودگی از طریق سوزن استفاده شده برای تزریق رخ دهد همچنین عفونت می‌تواند در گله های حساس تحت شرایط نامناسب بهداشتی در همان محل گسترش یابد(٦). سودوموناس آئروژنوزا پاتوژن فرصت طلبی است که می‌تواند با حمله به تخم مرغ بارور موجب مرگ جنین شود، و نیز سویه‌های بدخیم می‌تواند باعث اسهال، کم شدن آب بدن، تنگی نفس، عفونت خونی ومرگ جوجه‌های تازه از تخم در آمده شود(١٩).

مواد و روش کار

در این مطالعه یک گله ٥٠٠٠٠ تایی دارای تلفات در اول دوره در استان مازندران در فصل زمستان مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه جهت ارزیابی علائم بالینی موارد ابتلا در ١٠ نقطه از نقاط مختلف هر سالن تعداد ١٠٠ جوجه مورد بررسی قرار گرفتند. پرندگان مبتلا یک تصویر کلی از افسردگی، اسهال و کراتیت خفیف را ارائه می‌دادند. معاینات پس از مرگ تقریباً در همه پرندگان التهاب نزله ای بینی را نشان داد. کراتیت اغلب به صورت ابری شدن چشم در یک چشم دیده می‌شد. علائم بالینی عبارت بود از: کسالت، بستن چشم، نشستن، تنفس با دهان باز و اسهال که بعد ابتلا به طور میانگین ١٦/٢درصدی (٨١٠٠ قطعه) (به ترتیب در هر سالن ١٣٪، ١٥٪، ٢٠٪، ١٧٪، ١٦٪) در گله مرگ ومیر به طور میانگین ٦٪ (به ترتیب در هر سالن ٣٪، ٣٪، ١٠٪، ٨٪، ٦٪) طی ٣٦تا٧٢ ساعت ایجاد نمود. علائم کالبدگشایی آن عبارت بود از: سینوزیت، احتقان ریه و تورم کلیه، رسوب اورات در حالب، تورم مقعد، و از دست ندادن کیسه زرده مشاهده شد. سپس از ١٠٠ قطعه (١/٢٪ موارد مبتلا) (از هر سالن ٢٥-١٥ قطعه) موارد تازه تلف شده یا به صورت زنده طی ٣ روز متوالی از موارد دارای علائم بالینی به آزمایشگاه منتقل و بعد از ذبح نمونه برداری صورت گرفت و نمونه‌ها از بخشی از روده، کبد، طحال، قلب، خون قلب و در مواردی کراتیت چشم در آگار خون دار کشت داده شدند.

پلیت‌ها در انکوباتورهای هوازی در ۳۷ درجه قرار داشتند. محیط‌های آگار خون در روز بعد برای بررسی رشد برداشت شدند و پس از ۲٤–۱۸ ساعت پس از انکوباسیون مجدداً در محیط مک کانکی برای ۲٤ ساعت دیگر قرار گرفتند. از پرگنه‌های موجود رنگ‌آمیزی گرم به عمل آمد و بررسی تحرک باکتری صورت گرفت. همچنین آزمایش‌های بیوشیمیایی، گلوکز، لاکتوز، ایندول، اکسیداز، اوره و کاتالاز صورت گرفت. در نهایت آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی در محیط آگار مولر هینتون از روش دیسک با استفاده از دیسک‌های استاندارد انجام شد.

نتایج

آزمایش‌های باکتریولوژیکی آشکار کرد که هرچند در ۱۰٪ نمونه‌ها بعد از کشت افتراقی پرگنه‌های ناشی از E. coli هم مشاهده گردید، در تمامی موارد نمونه‌برداری پرگنه‌های مشکوک بزرگ، غیرمعمول (که در کشت‌های روتین دیده نمی‌شد) و نامنظم بودند و تولید مواد رنگی متمایل به سبز کرده و آن را منتشر می‌کند و بوی شبیه میوه روی آگار خونی ایجاد نمودند. پرگنه‌ها در آگار خوندار بتا همولیز بودن را مشخص نمودند. بعد از بررسی کلنی باکتریایی ارگانیسم متحرک بودن و پس از رنگ آمیزی گرم گرم منفی بودن مشخص شد. آزمایش‌های بیوشیمیایی نشان داد نمونه اکسیداز وکاتالاز مثبت، اوره و گلوکز مثبت بود در حالی که آزمون ایندول و لاکتوز منفی بود. همچنین بررسی امکان رشد در دمای ٤۲ درجه سانتی گراد بعد از کشت مجدد مشخص گردید. لذا در نهایت سپتی سمی ناشی از سودوموناس آئروژنوزا تشخیص داده شد. شدت آلودگی به طور میانگین به ترتیب در گله‌های مذکور (۲+، ۲+، ۳+، ۳+، ۳+) ملاحظه شد. آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که عامل جدا شده بیماری به پنی‌سیلین، نالیدیکسیک اسید، تتراسیکلین، اریترومایسین مقاوم بودند و نسبت به انروفلوکساسین حساسیت بسیار بالایی را نشان دادند (جدول ۱). سپس از محلول ۱۰٪ انروفلوکساسین به میزان ۱۰میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت افزودن محول یک لیتری در ۲۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی پرندگان به مدت ٤ روز برای درمان استفاده شد. بعد ازطی شدن پروسه درمانی پاسخ مناسب دریافت شد و گله به روند طبیعی بازگشت.

بحث

سودوموناس آئروژنوزا می‌تواند به طور موضعی و سیستمیک در پرندگان جوان و رو به رشد را مورد تهاجم قرار دهد(۱۱). میزان شیوع درگیری گله در جوجه‌های سن پایین (۱۵–۲ روز) در این بررسی ۱٦/۲٪ بود که نتایج ما تقریبا مشابه Hebat و همکاران (۲۰۰٤) که شیوع ۱۷/٦٪ را گزارش اعلام داشتند (٤) و کمی کمتر از گزارش Saif و همکاران (۱۹۸۳) بود که شیوع ۲۱/٦٪ را در کشور کنیا اعلام داشتند(۱۵). البته مطالعات صورت گرفته گله گوشتی (۸–٤ هفته) طبق گزارش Mrden و همکاران (۱۹۸۸) و Shahata و همکاران (۱۹۸۸) و Younes و همکاران (۱۹۸۸) و Hebat و همکاران (۲۰۰٤) به ترتیب شیوع ۳/٦٪، ٤/۷٦٪ ٤/٦٪ و ۳/۳٪ بود. که نشان می‌دهد مطابق انتظار سودوموناس آئروژنوزا بر جوجه گوشتی(۸–٤ هفته) اثر کمی دارد و بیشتر مشکل سنین پایین می‌باشد(۲۰و ۱۷، ۱۰، ٤).

Hebat و همکاران (۲۰۰٤) و Awaad و همکاران (۱۹۸۱) به ترتیب مرگ و میر ۸۰٪ و ۱۰۰٪ را پس از تزریق زیر جلدی گونه پاتوژن سودوموناس آئروژنوزا در جوجه‌های سن پایین (۱۵–۲ روز) گزارش نمودند (٤و ۱). البته تزریق عضلانی و تجویز خوراکی در این سن در غالب گزارشات بدون تلفات اعلام شده است. حساسیت آنتی بیوگرام در مطالعه ما نشان داد که ار گانیسم جدا شده نسبت به انروفلوکساسین و استرپتومایسین بسیار حساس بود اما نسبت به آمیکاسین و جنتامایسین حساسیت کمی را نشان داد این در صورتی است که Hebat و همکاران (۲۰۰٤) و Sadasivan و همکاران

(۱۹۷۷) بیشترین حساسیت را نسبت به نورفلوکساسین، کلرامفنیکل و استرپتومایسین اعلام نمودند (۱٤و ٤) و برخلاف آنها Walker و همکاران (۲۰۰۲) موثرترین آنتی بیوتیک را جنتامایسین اعلام نمودند (۱۹).

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در وقوع سپتی‌سمی‌های جوجه‌های گوشتی احتمال وقوع درگیری با سودوموناس آئروژنوزا با توجه به بررسی اخیر در استان مازندران نادیده گرفته نشود، هرچند به عنوان پاتوژن جنین مرغ و جوجه‌های نوزاد مطرح می‌باشد و اثر کمتری بر جوجه‌های گوشتی دارد. لذا با توجه به اینکه اساس کنترل سودوموناس آئروژنوزا بهداشت مناسب بخصوص در دوران هچری و کنترل بهداشت محیطی و مواد غذایی است لازم است در این خصوص دقت کافی صورت پذیرد و همچنین استفاده از آنتی بیوتیک مناسب در صورت لزوم می‌تواند کمک به کاهش مرگ و میر در گله را نماید.

جدول ۱ (حساسیت سودوموناس آئروژنوزا جدا سازی شده به انواع دیسک‌های آنتی بیوتیکی)

حساسیت سودوموناس آئروژنوزا جدا سازی شده	دیسک‌های آنتی بیوتیکی
++++	انروفلوکساسین
+++	استرپتومایسین
++	آمیکاسین
++	جنتامایسین
+	لینکومایسین
-	پنی‌سیلین
-	تتراسیکلین
-	اریترومایسین
-	نالیدیکسیک اسید

حساسیت بسیار بالا ++++

حساسیت بالا +++

حساسیت متوسط ++

حساسیت کم +

مقاوم -

REFERENCES

1. Awaad, M.H., Youssef, V.I., Saad, F.E. Sarakbi, T.M.B. (1981): Study on Ps. aeruginose in chickens. Vet. Med. J. of Cairo Univer. 29: 135–143.
2. Azizullah, M. N. K., Khattak, P., Richter, D. (2011): Water pollution in Pakistan and its impact on public health-A review. Environment International. 37:479-497.
3. Casanovas-Massana, F., Blanch, A.R. (2006): Identification of Pseudomonas aeruginosa in water-bottling plants on the basis of procedures included in ISO 16266:" Journal of Microbiological Methods. P: 1-5.
4. Hebat, A. A., El Halim, M. (2004): Some studies on Pseudomonas species in chicken embryos and broiler in Assiut Governorate. Ass. Univ. Bull. Environ. 7: 23-31.
5. Hinz, K. H., Ryll, M., Heffels – Redmann, U. (1992): Multikausal bedingte infektiose atemwegserkrankung Junger mastputen. Dtsch Tieraerztl wochenschr 99: 75–78.
6. John Barnes, H. (1997): Other bacterial disease: Pseudomonas. In Diseases of Poultry, edited by Calnek, B. W., John Barnes, H., Beard, C.W., Mcdougald L.R. and Saif, Y. M., 10 th edition.P: 291 – 292.
7. Joklik, W. K., H. P. Willett. (1976): Zinsser microbiology, 16th ed. Appleton-Century-Crofts, New York. P: 594–598.
8. Jordan, F. T. W. (1990): Poultry diseases. Bailliere Tindall, London, England.
9. Lin, M.Y., Cheng, M. C., Huang, K.J., Tsai, W.C. (1993): Classification, Pathogenicity, and drug susceptibility of hemolytic gram–negative bacteria isolated from sick or dead chickens. Avian Dis. 37:6–9.
10. Mrden, M., Velhner, M., Kovincic, I., Gagic, M. (1988): Prevalence and the results of experimentally induced Pseudomoniasis in chicks. Peradarstovo. 23(10): 295 – 298.
11. Narula, A.S., Kuppuswamy, P.B. (1969): Mortality among fowls due to Pseudomonas aeruginosa. Indian veterinary Journal.46: 650 – 653.
12. Ray, S., Banerji T.P. (1969): Pseudomonas Pyocynea septicaemia in young chicks. Indian Veterinary Journal 46: 547 – 551.

13. Ritchie, B.W., Harrison, G.J., Harrison, L.R. (1994): Avian medicine: principles and application. Wingers Publ., Inc., Lake Worth, FL.
14. Sadasivan, P.R., Srinivasan, V.A., venugopalan A.T., Balaprakasam, R.A. (1977): Aeruginocine typing and antibiotic senstivity of Pseudomonas aeruginosa of poultry origin. Avian Dis. 21(1):136–138.
15. Saif – Edin, M. El – Bakry. (1983): Some studies on Pseudomonas infection in chickens. M. V. Sc., Thesis Presented to Fac. of Vet. Med., Assiut Univ.
16. Sarma, D. R. L., Char, N.L., Rao, D.J., Narayna, G. (1985): A comprehensive study on bacterial flora isolated from yolk sac infection (omphalitis) in chicks. Indian J. Poult. Sci. 20:262–266.
17. Shahata, M.A., El–Timawy, A.M., Seddik, I. (1988): Occurrence of Pseudomonas infections in fowl. Assiut Vet. Med. J. 20: 39.
18. Stender, H., Broomer, A., Oliveira, K., Heather, P., Jens, J. H., Sage, A., Young, B., Coull, J. (2000): "Rapid detection, identification, and enumeration of Pseudomonas aeruginosa in bottled water using peptide nucleic acid probes," Journal of Microbiological Methods. 42:245-253.
19. Walker, S.E., Sander, J.E., Cline, J.L., Helton, J.S. (2002): Characterization of Pseudomonas aeruginosa isolates associated with mortality in broiler chicks. Avian Dis. 46: 1045 – 1050.
20. Younes, T., Youssef, H., Abdal–Karim, S., Hassanein, K. (1990): Epedemiologically Studies of Ps. aeruginosa in chickens, fish and human. Assiut. Vet. Med. J. 23 (45): 48–56.