در
امور دام و آبزیان شماره ۷۳، زمستان ۱۳۸۵
پژوهش و سازندگی

جداسازی، شناسایی و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی *Haemophilus paragallinarum* جدا شده از گله‌های تخمگذار تجاری مبتلا به کوریزای عفونی

• منصور بنانی، • سید علی پوربخش، • پژواک خاکی، • حسین گودرزی،
• غلامرضا مؤذنی جولا و • ناصر قدسیان، اعضای هیأت علمی‌مؤسسه
تحقیقات واکسن و سرمسازی مؤسسه رازی، حصارک کرج

تاریخ دریافت: اسفند ماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: آبان ماه ۱۳۸۴

Email: m:banani@rvsri.com

چکیده

طی سالهای ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۱ از ماکیان تجاری مشکوک به کوریزای عفونی و ارسالی به موسسه رازی به منظور جداسازی باکتری *H. paragallinarum* طبق روش استاندارد , کشت باکتریایی به عمل آمد. نمونه‌های مورد بررسی از ۱۴ گله جوجه گوشتی، ۸ گله مرغ مادر و ۷ گله مرغ تخمگذار تجاری بودند..باکتری *H. paragallinarum* از ۴ گله تخمگذار جدا گردید. شناسایی باکتری‌ها با کمک خصوصیات بیوشیمیایی و ایجاد بیماری کوریزای عفونی در جوجه‌های عاری از پاتوژن‌های اختصاصی(SPF) صورت گرفت. ذخیره باکتری‌ها با تکثیر آنها در زرده تخم مرغ‌های SPF جنین دار و نگهداری زرده‌ها در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد انجام شد. در آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به روش انتشار از دیسک، تمامی باکتری‌های جدا شده نسبت به سیپروفلوکساسین، لینکواسپکتین، سفالکسین، سفتر یاکسون، فورازولیدون، کلرامفنیکل، اکسی تتراسیکلین، تتراسیکلین و سولفامید + تری متوپریم کاملاً حساس بودند. سه باکتری جدا شده از ۴ مورد در مقابل استرپتومایسین و انروفلوکساسین، دو باکتری جدا شده در برابر آمپی سیلین، تیامولین و فلومکوئین و یک باکتری جدا شده نسبت به جنتامایسین و آموکسی سیلین حساسیت کامل را نشان دادند. تمامی‌باکتری‌های جدا شده نسبت به پنی سیلین، نوبیوسین، تایلوزین، باسیتراسین و لینکومایسین کاملاً مقاوم بودند. به‌نظر می‌رسد که مطالعه وسیع‌تر و عمیق‌تر سویه‌های بومی *H. paragallinarum* به منظور مقابله اصولی با بیماری کوریزای عفونی ضروری است.

کلمات کلیدی: جداسازی باکتری، حساسیت آنتی بیوتیکی، *Haemophilus Paragallinarum* ، کوریزای عفونی، ماکیان تخمگذار

Pajouhesh & Sazandegi No 73 pp: 128-135

Isolation, identification and antibiotic sensitivity of *Haemophilus paragallinarum* isolates from commercial layer flocks affected by infectious coryza

By: Banani, M. Pourbakhsh, S.A; Khaki; P; Goodarzi, H. Moazeni- Jula,G and Ghodsian, N. Members of Scientific Board of Razi Vaccine and Serum Research Institute.

During October 2000 up to December 2002, Samples from commercial chickens submitted to Razi Institute and suspected to infectious coryza were cultured for isolation of *H. paragllinarum* based on the standard methods. The tested samples were from 14 broiler, 8 broiler breeder and 7 commercial layer flocks. *H. paragllinarum* was isolated from 4 commercial layer flocks. The bacteria were identified on the basis of biochemical characteristics and experimental infection in specific pathogen free (SPF) chickens. Successful storage of bacteria was carried out using propagation in yolk sac of SPF – embryonated eggs and the yolks stored at - 70^{oC} for at least 1 year. The isolates were tested for sensitivity using standard disk diffusion technique. All the isolates were susceptible to ciprofloxacin, linco spectin, cephalexin, ceftriaxone, furazolidone, chloramphenicol, tetracycline, oxytetracycline and sulfamethoxazol – trimethoprim. Three isolates out of 4 (75%) were susceptible to streptomycin and enrofloxacin, 2 of 4 (50%) were sensitive to ampicillin, tiamulin and flumequine and 1 out 4 (25%) was susceptible to gentamicin and amoxicillin. All of the isolates were completely resistant to penicillin, novobiocin, tylosin and lincomycin. It seems that more extensive investigations on the local strains are required for proper treatment and prevention of infectious coryza.

Key words: Bacterial isolation, Drug sensitivity, *Haemophilus paragallinarum*, Infectious coryza, Layer chicken

مقدمه

کوریزای عفونی[1](IC) یک بیماری حاد دستگاه تنفس ماکیان است که بر اثر باکتری [2](HP) ایجاد می‌شود. نام کوریزا به دلیل علامت بارز بیماری یعنی درگیری راه‌های بینی است و خسارت عمده اقتصادی بیماری به دلیل کاهش رشد و افت تولید تخم مرغ (۱۰ تا ۴۰درصد) درصد) است. بیماری به‌طور عمده در ماکیان اتفاق می‌افتد و از نظر بهداشت عمومی فاقد اهمیت است (۶، ۷، ۹). بیماری IC در سال ۱۹۲۰ شناسایی شد و عامل آن نیز در سال ۱۹۳۲ جدا گردید. در سال ۱۹۶۲ نام *H. paragallinarum* به جای *H. gallinarum* به عامل IC اطلاق گردید(۶، ۹). از سال ۱۹۹۲ سویه‌های جدیدی از باکتری با توانایی رشد در محیط‌های فاقد نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید[3] NAD از آفریقای جنوبی گزارش شده است (۶، ۹، ۱۰). بر اساس آزمایشات سرولوژیکی و مولکولی متعدد، سویه‌های مختلف این باکتری شناسایی و طبقه بندی شده است. در یک بررسی با کمک پادتن مونوکلونال، تفاوت سرووار سویه‌های واکسن IC با باکتری‌های HP جداشده از مرغداری‌ها مشخص شد(۹). در ماکیان تجاری ایران علائم بالینی مشکوک به IC به فراوانی مشاهده می‌شود و اقدام به درمان با داروهای مختلف بدون انجام آنتی بیوگرام و مصرف گسترده واکسن IC وارداتی متداول است؛ ولی کار تحقیقاتی در خصوص IC و عامل آن در ایران به ندرت انجام شده است و گزارش جداسازی و شناسایی عامل IC محدود به دو مطالعه است. بزرگمهری فرد در سال ۱۳۵۸ (۱) اولین گزارش جداسازی و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی *H. gallinarum* در ایران را ارائه کرد (۱). بنانی و همکاران در بررسی عوامل باکتریایی مولد تورم سر و صورت به دو مورد جداسازی *H. paragallinarum* بدون مشخص نمودن حساسیت آنتی بیوتیکی آنها اشاره نموده‌اند (۲). هدف از مطالعه حاضر، بررسی خصوصیات بیوشیمیایی و حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری‌های *H. paragallinarum* جدا شده بود. نگهداری و ذخیره مطمئن باکتری‌های جدا شده نیز از دیگر اهداف این تحقیق بود، زیرا یکی از دلایل کمبود گزارشات و مطالعات در ایران، حساس بودن باکتری و از بین رفتن آن پس از جداسازی اولیه بوده است.

مواد و روش‌ها

انتخاب نمونه

از نمونه‌های طیور تجاری ارسالی به موسسه رازی طی سالهای ۱۳۷۹ تا ابتدای زمستان ۱۳۸۱ مواردی که علائم مشکوک به IC دیده شده بود، انتخاب شدند. اخذ اطلاعات از مرغدار و معاینات بالینی و کالبد گشایی بر روی نمونه‌های زنده و تلف شده ارسالی انجام شد. در صورت لزوم سایر آزمایش‌های متداول نظیر باکتریولوژی، سرولوژی و ویروس شناسی نیز در کنار کشت برای جداسازی HP انجام شد. بدین ترتیب در مجموع ۲۹ گله ماکیان شامل ۱۴ گله جوجه گوشتی، ۸ گله مادر گوشتی و ۷ گله تخمگذار تجاری بررسی گردید. از هر گله حداقل یک قطعه طیور زنده مریض با علائم مشکوک به IC معاینه و نمونه‌برداری می‌شد. در مواردی نیز از ۱۰ قطعه تلفات تازه طیور با علائم مشکوک به IC نمونه برداری گردید.

نمونه برداری، کشت و شناسایی

نمونه برداری در شرایط استریل از سینوس زیر چشمی پرندگان مریض کشتار شده به روش انسانی (۴) و همین‌طور طیور تلف شده و نمونه‌های سر ارسالی انجام گردید. کشت و شناسایی باکتری طبق روش استاندارد (۶، ۷) انجام شد که به‌طور خلاصه به شرح زیر بود.

پس از کشت نمونه در ژلوز خوندار از کشت خطی باکتری *Sta. epidermidis* یا *Sta. aureus* به عنوان پرگنه پرستار و دهنده NAD استفاده شد. جهت اطمینان از فراهم شدن NAD از طریق استافیلوکوکوس به کار رفته (feederبودن آن) ابتدا از کشت همزمان باکتری *H. paragallinarum* استاندارد سویه J- ۲۲۱ استفاده گردید. در مراحل بعدی محیط های شکلات آگار و محیط آگار GC همراه خون لیز شده و مکمل ایزوویتالکس (Isovitalex) (شرکت Becton Dickinson، آمریکا) یا مکمل NAD برای تکثیر باکتری به کار گرفته شد. تمامی مراحل کشت باکتری در اتمسفر میکرو آئروفیلیک انجام گرفت.

بیماریزا بودن باکتری جداشده با تزریق سوسپانسیون باکتری به سینوس زیر چشمی۵ قطعه جوجه[۴] SPF همراه با گروه کنترل تزریق شده با سرم نمکی بررسی شد. در صورت تورم سینوس نسبت به جداسازی باکتری HP اقدام گردید.

حفظ و نگهداری باکتری

به منظور حفظ سویه‌های جدا شده برای انجام آزمایشات بعدی، بقای باکتری در شرایط مختلف زیر مورد بررسی گردید:

۱ - تکثیر در محیط کشت جامد و نگهداری محیط‌ها در یخچال در شرایط هوازی یا میکروآئروفیلیک.

۲ - تکثیر در زرده تخم مرغ جنین دار با تزریق و کشت باکتری در زرده تخم مرغ‌های SPF شش روزه و جمع آوری زرده پس از تلف شدن جنین در عرض ۱تا۲ روز پس از تزریق و سپس نگهداری زرده‌ها در دمای ۲۰- یا ۷۰-درجه سانتی گراد.

۳ - لیوفیلیزه کردن زرده‌ها پس از تکثیر باکتری در آنها

تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی

آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی مطا بق با روش انتشار از دیسک (۳) انجام شد. به دلیل عدم رشد باکتری در محیط مولر هینتون از محیط کشت GC همراه خون لیز شده و حاوی مکمل ایزوویتالکس یا مکمل NAD استفاده شد و نتیجه پس از ۲۴ ساعت نگهداری در اتمسفر حاوی ۵ در صد CO_2 قرائت گردید. دیسکهای آنتی بیوتیکی شامل نئومایسین(N۳۰)، جنتامایسین(GM۱۰)، استرپتومایسین(S۱۰)، لینکواسپکتین(LS۱۵/۲۰۰)، لینکومایسین(L۵)، پنی سیلین(P۱۰)، آموکسی سیلین(AMX۲۵)، آمپی سیلین(AM۱۰)، اریترومایسین(E۱۵)، سفالکسین(CN۳۰)، سفتریاکسون(CRO۳۰)، نووبیوسین(NB۵)، باسیتراسین(BA۱۰)، فورازولیدون(FR۱۰۰)، کلیستین(CL۱۰)، تیامولین(TM۳۰)، تایلوزین(TY۳۰)، تتراسیکلین(TE۳۰)، اکسی تتراسیکلین(T۳۰)، فلومکوئین(FM۳۰)، انروفلوکساسین(NFX۵)، سیپروفلوکساسین(CP۵) و سولفامتوکسازول + تری متوپریم (SXT ۱,۲۵/ ۲۳,۷۵)بود (اعداد داخل پرانتز مقدار آنتی بیوتیک بر حسب میکروگرم یا واحد در هر دیسک است). حساسیت، مقاومت و نیمه حساس بودن باکتری نسبت به هر آنتی بیوتیک بر اساس قطر ناحیه ممانعت از رشد باکتری و مقایسه آن با منابع استاندارد باکتریولوژیک (۱۵) تعیین گردید.

نتایج

مشخصات و علائم گله‌های مبتلا به کوریزای عفونی

در بررسی حاضر باکتری *H. paragallinarum* از نمونه‌های ارسالی از ۴ گله مرغ تخمگذار تجاری با مشخصات زیر جدا گردید:

نمونه اول

در مورخه ۸۰/۷/۳ شش قطعه تلفات و ۲ قطعه طیور زنده از یک گله تخمگذار ۲۱۵۰۰ قطعه ای و از نژاد هایلاین با سن ۱۰ ماهه (۴۰ هفته) واقع در منطقه کرج، به موسسه رازی ارجاع داده شد. در سابقه این گله واکسیناسیون علیه IC وجود نداشت و درمان آنتی بیوتیکی (سولتریم) از روز قبل از مراجعه آغاز شده بود. از یک هفته قبل از مراجعه افت تولید تخم مرغ و تورم سر و صورت مشاهده شده بود. میزان واگیری کوریزا ۱۸/۶ درصد و تلفات روزانه ناچیز (۰/۳ در هزار) بود. در هنگام مراجعه میزان تولید گله ۷۸٪ بود. در کالبد گشایی تلفات ارسالی پریتونیت همراه با تخم شکستگی (Egg peritonitis) و در معاینه زنده‌ها تورم سر و صورت جلب توجه می‌کرد. نتیجه کشت ویروسی از نای، طحال و سکال تونسیل از لحاظ ویروس‌های تنفسی رایج منفی بود. باکتری اورنیتو باکتریوم رینوتراکیال ORT[۵] و مایکوپلاسما جدا نگردید و انگل کریپتوسپوریدیوم مشاهده نشد. میانگین عیار پادتن HI در مورد بیماری نیوکاسل و آنفلوانزای طیور بر مبنای Log۲ به ترتیب ۸ و ۴ بود.

نمونه دوم

این گله به تعداد ۲۲۰۰۰ قطعه، با سن ۲۰ ماهه (۸۰ هفته) در مجاورت گله (نمونه) اول نگهداری می‌شد و در سال دوم تخمگذاری بود. چهار قطعه طیور زنده از این گله ارسال شده بود و مرغدار از افت تولید تخم مرغ شکایت داشت. در این گله واکسن کوریزای عفونی در سن ۴ ماهگی تزریق

شده بود. باکتری ORT علاوه بر *H. paragallinarum* از نای و سینوس زیر چشمی‌جدا گردید. میزان تلفات روزانه ۰/۲۳ درصد بود.

نمونه سوم

در مورخ ۱۳۸۰/۱۰/۳ از یک گله پولت تخمگذار ۹۷ روزه (۱۸ هفته) واقع در منطقه تایباد استان خراسان به تعداد ۲۳۰۰۰قطعه با علائم تورم سر و اطراف چشم و تورم کیسه هوایی و پریکاردیت و با تلفات روزانه بین ۰/۵ تا ۱ در هزار نمونه برداری گردید. در سابقه این گله استفاده از واکسن IC وجود نداشت یک نمونه سر منجمد شده از این گله در مورخ ۱۳۸۰/۱۰/۱۵ به موسسه رازی ارسال گردید.

نمونه چهارم

در مورخه ۸۱/۴/۲۹ تعداد ۴ نمونه مرغ تخمگذار زنده با علائم واضح مشکوک به کوریزای عفونی (تصویر۱) از یک گله تخمگذار تجاری ۳۳۰۰۰ قطعه‌ای و باسن ۴۴ هفته از نژاد هایلاین واقع در استان اردبیل به موسسه رازی ارجاع شد. در سابقه این گله تجویز واکسن IC و مصرف داروهای تتراسیکلین و انروفلوکساسین ذکر شده بود. نمونه‌های مورد بررسی از نظر سایر عوامل بیماریزا منفی بودند.

عوامل باکتریایی جدا شده از سایر نمونه‌های ارسالی با علائم تورم سر و صورت که عامل IC از آنها جدا نشده بود در گزارش دیگری به تفصیل ارائه گردیده است (۲).

نتایج کشت و شناسایی باکتری در ۴ گله فوق

۲۴ ساعت پس از کشت سواپ‌های سینوس زیر چشمی‌در ژلوز خوندار همراه باکشت خطی استافیلوکوکوس , پرگنه‌های ریز شبنمی با رشد اقماری در کنار پرگنه‌های پرستار مشاهده شدند (تصویر۲). تکثیر بهتر و بیشتر در محیط‌های اختصاصی دیده شد. رشد ضعیف در محیط شکلات آگار و رشد مناسب در محیط‌های GC همراه خون لیز شده حاوی مکمل ایزوویتالکس یا مکمل NAD مشاهده گردید.

خصوصیات بیوشیمیایی باکتری‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. در رنگ آمیزی، باکتری‌های گرم منفی کوکوباسیل همراه اشکال رشته ای مشاهده شد و در کشت ۴۸ ساعت و بعد از آن اشکال دژنره و قطعه قطعه جلب توجه نمود که با کشت در محیط تازه مجدداً شکل اولیه خود را بدست می‌آورد. با ایجاد تورم سینوس‌ها ۱ تا ۲ روز پس از تلقیح باکتری جدا شده به داخل سینوس زیر چشمی‌جوجه‌های SPF بیماریزا بودن هموفیلوس‌های جدا شده تائید گردید. باکتری *H. paragallinarum* مجدداً از طیور SPF تحت آزمایش جدا می‌شد.

نتایج بررسی زنده مانی باکتری

پلیت‌های حاوی *H. paragallinarum* تکثیر یافته که در محفظه حاوی شمع سوخته و در دمای ۴ تا ۸ درجه سانتیگراد نگهداری می‌شدند، فقط به مدت ۷ تا ۱۰ روز، زنده و قابل تجدید کشت بودند. زرده‌های حاصل از کشت باکتری در تخم مرغ جنین دار به صورت لیوفیلیزه و غیر لیوفیلیزه همراه یا بدون گلیسیرین همگی به خوبی در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد و حداقل تا یکسال زنده و قابل کشت بودند.

نتایج آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی

نتایج تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ۴ باکتری *H. paragallinarum* جدا شده در جدول ۲ نشان داده شده است. همه باکتری‌های جدا شده نسبت به لینکواسپکتین،سیپروفلوکساسین، سفالکسین، سفتریاکسون، فورازولیدون، کلرامفنیکل، تتراسیکلین، اکسی تتراسیکلین و ترکیب سولفامید + تری متوپریم کاملاً حساس بودند و در مقابل پنی سیلین، نووبیوسین، باسیتراسین، لینکومایسین و تایلوزین مقاومت کامل را نشان دادند. میزان حساسیت کامل نسبت به استرپتومایسین، انروفلوکساسین، آمپی سیلین، تیامولین، فلومکوئین، جنتامایسین، آموکسی سیلین، نئومایسین، اریترومایسین، کلیستین به ترتیب ۷۵، ۷۵،۵۰، ۵۰، ۵۰، ۲۵، ۲۵، صفر، صفر و صفر درصد بود.

بحث

مقابله اصولی با کوریزای عفونی بیشتر براساس رعایت اصول بهداشتی و مدیریتی و واکسیناسیون است (۶، ۹). تعدادی از محققین وقوع واگیری کوریزای عفونی در گله‌های واکسینه را گزارش کرده‌اند (۱۰، ۱۴). به نظر می‌رسد که با توجه به گزارشات ارائه شده از برخی کشورها (۱۰، ۱۴) جداسازی و نگهداری سویه‌های بومی‌از واگیری‌های مختلف کوریزای عفونی و سپس بررسی خصوصیات مختلف آنها و در نهایت تهیه واکسن بومی مناسب ضروری می‌باشد. بدین منظور روش تکثیر و نگهداری به کار رفته در مطالعه حاضر می‌تواند راهگشا باشد. تاثیر واکسن کوریزا حتی اگر سروتیپ واکسن با سویه بیماریزای

جدول ۱- خواص بیوشیمیایی باکتری‌های *H. paragallinarum* جدا شده از۴ گله طیور تخمگذار تجاری ایران

خصوصیات باکتری	نتیجه
رشد هوازی	-
کاتالاز	-
اکسیداز	+
رنگ آمیزی گرم	-
رشداقماری درمجاورت استافیلوکوک	+
احیای نیترات	+
تخمیرآرابینوز	-
تخمیرگالاکتوز	-
تخمیرمالتوز	+
تخمیرمانیتول	+
تخمیرترهالوز	-
تخمیرگلوکز	+
هماگلوتیناسیون	+

تصویر ۱ - دو قطعه مرغ تخمگذار تجاری با سن ۴۴ هفته و از نژاد هایلاین،
ارسالی از استان اردبیل و با علائم IC (تورم سینوس‌هاو ادم صورت) مشاهده می‌شوند.

تصویر ۲- پر گنه‌های شبنمی ***H. paragallinarum*** در مجاور
پرگنه‌های ***Sta. aureus*** (به عنوان پرگنه‌های پرستار) در محیط ژلوز خوندار رشد کرده‌اند.

جدول ۲- نتایج تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی ۴ سویه *H. paragallinarum* جداشده از ۴ گله طیور تخمگذار تجاری ایران

ردیف	نام دارو	درصد موارد حساس	درصد موارد نیمه حساس	درصد موارد مقاوم
۱	نئومایسین	۰	۲۵	۷۵
۲	جنتامایسین	۲۵	۵۰	۲۵
۳	استرپتومایسین	۷۵	۲۵	۰
۴	لینکواسپکتین	۱۰۰	۰	۰
۵	لینکومایسین	۰	۰	۱۰۰
۶	پنی سیلین	۰	۰	۱۰۰
۷	آموکسی سیلین	۲۵	۲۵	۵۰
۸	آمپی سیلین	۵۰	۲۵	۲۵
۹	اریترومایسین	۰	۱۰۰	۰
۱۰	سفالکسین	۱۰۰	۰	۰
۱۱	سفتریاکسون	۱۰۰	۰	۰
۱۲	نوبیوسین	۰	۰	۱۰۰
۱۳	باسی تراسین	۰	۰	۱۰۰
۱۴	فورازولیدون	۱۰۰	۰	۰
۱۵	کولیستین	۰	۲۵	۷۵
۱۶	تیامولین	۵۰	۲۵	۲۵
۱۷	تایلوزین	۰	۰	۱۰۰
۱۸	تتراسیکلین	۱۰۰	۰	۰
۱۹	اکسی تتراسیکلین	۱۰۰	۰	۰
۲۰	فلومکوئین	۵۰	۲۵	۲۵
۲۱	انروفلوکساسین	۷۵	۲۵	۰
۲۲	سیپروفلوکساسین	۱۰۰	۰	۰
۲۳	سولفامتوکسازول + تریمتوپریم	۱۰۰	۰	۰
۲۴	کلرامفنیکل	۱۰۰	۰	۰

مزرعه مشابه باشند و به ویژه در واکسن‌های غیر فعال کامل نیست (۹، ۱۰، ۱۴) و احتمال وقوع کوریزای عفونی در مرغداری‌های کشور به رغم واکسیناسیون وجود دارد. از طرف دیگر گله‌های طیوری که واکسینه نشده‌اند و اصول بهداشتی را رعایت نمی‌کنند و یا انجام واکسیناسیون ایده آل نبوده است، در معرض ابتلا هستند. از جمله جوجه‌های گوشتی که به دلیل مقاومت نسبی در زمره گله‌های دریافت کننده واکسن IC نبوده‌اند ولی می‌توانند به کوریزای عفونی مبتلا شوند (۸، ۱۴). بنابراین درمان آنتی بیوتیکی یکی از راه‌هایی است که در مواجهه با کوریزی عفونی مطرح می‌باشد. با وجود این متاسفانه در زمینه تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سویه‌های بومی ایران به ندرت تحقیق و یا کار متداول آزمایشگاهی انجام شده است. تنها گزارشی که در خصوص جداسازی و تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی عامل IC و آنهم *H. gallinarum* وجود دارد در سال ۱۳۵۸ توسط بزرگمهری فرد (۱) ارائه شده است و پس از آن اطلاعی از حساسیت آنتی بیوتیکی سویه‌های *H. paragallinarum* کشور وجود ندارد. بزرگمهری فرد میزان حساسیت ۴ سویه *H. gallinarum* (نام قدیمی عامل IC) را نسبت به ۹ داروی مختلف بررسی نمود و حساسیت تمامی سویه‌ها را نسبت به ترکیب تری متوپریم و سولفادیازین و مقاومت کامل آنها را نسبت به اسپکتینومایسین مشاهده نمود. ۵۰ درصد نمونه‌ها در مقابل نئومایسین، فورادانتین، استرپتومایسین و تتراسیکلین و ۲۵ درصد آنها در برابر کلرامفنیکل و سولفاکلروپیرایدازین حساس بودند (۱). در مقایسه با آن و در بررسی حاضر، حساسیت کامل تمامی‌سویه‌ها نسبت به ترکیب تری متوپریم + سولفامتوکسازول، تتراسیکلین و کلرامفنیکل و حساسیت ۷۵ درصد سویه‌هادر برابر استرپتومایسین و ۵۰ درصد آنهادر مقابل نئومایسین مشاهده می‌شود؛ که در مجموع بیانگر حساسیت بیشتر باکتری‌های جدا شده در بررسی حاضر است.

سولفامیدها و برخی آنتی بیوتیک‌ها در تخفیف علائم و خسارات بیماری موثر هستند (۶، ۹) و مشاهدات بالینی نگارندگان این مقاله و سایر کلینیسین‌های طیور کشور نیز موید آنست. انروفلوکساسین، اریترومایسین، اکسی تتراسیکلین، سولفامیدها، استرپتومایسین، ترکیب سولفامید + تری متوپریم و برخی ترکیبات دو تایی از داروهای فوق به عنوان داروهای موثر علیه کوریزای عفونی مطرح شده‌اند (۶، ۹). با وجود این Blackall در۱۹۸۸(۵) و Reece و Coloe در ۱۹۸۵(۱۲) وقوع مقاومت آنتی بیوتیکی را گزارش نموده‌اند. بهمین دلیل Blackall و Matsumoto آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی را قبل از اقدام درمان کوریزای عفونی توصیه می‌نمایند (۶). اخیراً داروهای جدید از خانواده فلورکینولون‌ها نظیر نورفلوکساسین (Norfloxacin) و افلوکساسین (Ofloxacin) تاثیرات نوید بخشی را نشان داده‌اند (۶، ۱۱). در مطالعه حاضر نیز تمامی باکتری‌های جدا شده نسبت به سیپروفلوکساسین کاملاً حساس بودند ولی در مقابل انروفلوکساسین ۷۵ درصد آنها کاملاً حساس و ۲۵ درصد دیگر به‌طور متوسط حساس بودند.

Rimler از آمریکا در سال ۱۹۷۹ حساسیت آنتی بیوتیکی ۳۵ سویه هموفیلوس پرندگان را که تحت نام‌های *H. gallinarum* و یا *H. paragallinarum* از آمریکا، برزیل، آلمان، آفریقای جنوبی، ژاپن، گواتمالا و جمهوری دومنیکن جدا شده بود با روش انتشار از دیسک بررسی نمود (۱۳). تمامی‌سویه‌های مورد بررسی نسبت به کلرامفیکل، اریترومایسین، فوروکسون (فورازولیدون) جنتامایسین، نالیدیکسیک اسید، نئومایسین، نوبیوسین، پنی سیلین، اسپکتینومایسین و تتراسیکلین کاملاً حساس بودند. حساسیت سویه‌های مورد بررسی در برابر استرپتومایسین، باسیتراسین، کلیستین و لینکومایسین به ترتیب ۵۷، ۳۴، ۳۱، ۲۳ درصد بود(۱۳).

Reece و Coloe ، با استفاده از روش انتشار از دیسک، مقاومت ۲ تا ۱۴ *H. paragallinarum* جدا شده از استرالیا را نسبت به ۷ داروی مختلف گزارش نمودند (۱۲). هیچ مورد مقاومتی در برابر اریترومایسین، فورازولیدون و نئومایسین مشاهده نگردید. درصد موارد مقاوم نسبت به استرپتومایسین، سولفامیدها، تتراسیکلین و ترکیب سولفامید و تری متوپریم، به ترتیب ۲۷، ۲۵، ۲۲و ۱۱ درصد بودند (۱۲).

Blackall در سال ۱۹۸۸، حساسیت ۷۵ سویه *H. paragallinarum* را با روش حداقل غلظت ممانعت کننده در محیط براث و در برابر ۶ آنتی بیوتیک مختلف بررسی نمود (۵). ۴۰ سویه از استرالیا و بقیه از آلمان، آمریکا،آفریقای جنوبی و ژاپن جدا شده بودند. تمامی‌سویه‌های مورد مطالعه نسبت به آمپی سیلین، پنی سیلین و اریترومایسین حساس بودند و موارد حساس نسبت به تتراسیکلین، نئومایسین واسترپتومایسین به ترتیب ۹۹، ۹۵ و ۶۹ درصد بودند (۵).

در این مطالعه در چند مورد به رغم مصرف داروهای موثر علائم بیماری دیده می‌شد. Hinz، اظهار می‌دارد که معمولاً ۵ تا ۷ روز پس از درمان، علائم بالینی کوریزای عفونی کاملاً بر طرف می‌شود اما پس از قطع دارو ممکن است عود بیماری مشاهده شود (۹). وی علت این امر را بی تاثیر بودن دارو نمی‌داند بلکه از آنجا که دارو نمی‌تواند عامل بیماری را در تمام جمعیت گله و همچنین در محیط از بین ببرد، بنابراین تا قبل از ایجاد ایمنی مناسب در اکثر پرندگان مبتلای گله، نشانه‌های بالینی به‌طور کامل از بین نخواهد رفت (۹).

با توجه به کمبود اطلاعات آزمایشگاهی درمورد عامل کوریزای عفونی در ایران مطالعات بیشتر و عمیق‌تری به منظور پیشگیری و درمان بهتر این بیماری ضروری به‌نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات و همکاری صمیمانه کارکنان محترم بخش‌های بیماری‌های طیور و میکروب شناسی موسسه رازی به ویژه آقایان حسین مدیر روستا، محمد محمد طاهری و همینطور از آقایان دکتر رضا ممیز و دکتر محمد شالباف قدردانی می‌گردد. از خانم آهنگران به خاطر تایپ این مقاله سپاسگزاری می‌شود.

پاورقی‌ها

1- Infectious Coryza (IC)
2- *Haemophilus paragallinarum* (HP)
3- Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD)
4- Specific Pathogen Free (SPF)
5- *Ornithobacterium Rhinotracheale* (ORT)
6- Egg Peritonitis

منابع مورد استفاده

۱ - بزرگمهری فرد، محمد حسن ۱۳۵۸؛ تعیین میزان حساسیت باکتری‌های بیماریزای طیور نسبت به آنتی بیوتیک‌های مختلف. نامه دانشکده دامپزشکی تهران، دوره ۳۵ شماره ۱و ۲، صفحات ۱۰۱ – ۸۸.

۲ - بنانی، منصور؛ پوربخش، سید علی؛ خاکی، پژواک؛ مؤذنی جولا، غلامرضا.۱۳۸۳؛ جداسازی و شناسایی عوامل باکتریایی از ماکیان تجاری مبتلا به تورم سر و صورت. مجله تحقیقات دامپزشکی ایران. دوره پنجم، شماره پیاپی ۹. صفحات ۶۱ – ۴۹.

3- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., and Turck, M.1966; Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., 45:493-496.

4- Bermudez, A.J. and Stewart – Brown, B. 2003; Disease prevention and diagnosis In: Diseases of Poultry. Saif, Y.M., et al., (eds) 11th edn. Iowa State Press. Pp: 17-55.

5- Blackall, P.J. 1988; Antimicrobial drug resistance and the occurrence of plasmids in *Haemophilus paragallinarum*. Avian Dis. 32:742-747.

6- Blackall, P.J. and Matsumoto, M. 2003;Infectious coryza. In: Diseases of poultry. Saif, Y.M. et al., (eds). 11th edn. Iowa State Press. Pp:691 -703.

7- Blackall, P.J. and Yamamoto, R. 1998; Infectious coryza. In: A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. Swayne, D.E., et al., (eds). 4th edn. American Association of Avian Pathologists: Philadelphia pp: 29-34.

8- Droual, R., Bickford A.A., Charlton, B.R., Cooper G.L., and channing S.E. 1990; Infectious coryza in meat chickens in the San Joapuin Valley of California. Avian Dis. 34: 1009-1016.

9- Hinz, K.H. 1999; *Haemophilus paragallinarum* (infectious coryza, fowl coryza). In: Poultry diseases. Jordan, F.T.W. and Pattison , M.(eds). Fourth edn. (reprinted). Saunders Company. Pp: 52-56.

10- Horner, R.F., Bishop., G.C., Jarvis , C.J. and Coetzer T.H.T. 1995; NAD (V-factor) – independent and typical *Haemophilus paragllinarum* infection in commercial chickens : a five years field study. Avian Pathol. 24: 453-463.

11- Lublin , A., Mechani, S., Malkinson, M., and weisman, Y. 1993; Efficacy of norfloxacin nicotinate treatment of broiler breeders against *Haemophilus paragllinarum*. Avian Dis. 37: 673-679.

12- Reece, R.L., and Coloe, P.J. 1985. The resistance to anti – microbial agents of bacteria isolated from pathological conditions of birds in Victoria, 1978 to 1983. Aust. Vet. J. 62: 379-389.

13- Rimler, R.B. 1979. Studies of the pathogenic avian haemophili. Avian Dis. 23: 1006-1018.

14- Sandoval, V.E., Terzolo, H.R., and Blackall, P.J. 1994. Complicated infectious coryza outbreaks in Argentina. Avian Dis. 38: 672-678.

15- Treagan, L., and Pulliam, L., 1982. Medical microbiology laboratory procedures. W.B. Saunders Co. Philadelphia. Pp: 233-243.