Bi-quarterly Journal of
Animal health and infectious diseases
Volume 1, Number 2
Journal homepage: https://jahid.lu.ac.ir/

Bacterial causes of respiratory diseases of sheep cultivation and industry

Mohammad Nazarpour [1 *], Iraj Karimi [2]

1. Graduate of the master of bacteriology, Department of pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of sharkard, sharkard, Iran
2. Associate Professor, Department of pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of sharkard, sharkard, Iran

ABSTRACT

Background and Aim: Red meat is the richest and most important source of protein needed by human. Mutton is one of the most important sources of protein in] Iran. Today, due to the limitations of sheep breeding and on the other hand, the high demand for mutton in society, the issue of reducing slaughterhouse waste and optimizing breeding is one of the most important and valuable problems in breeding of this valuable animal. The most important causes of these lesions are bacterial, viral and parasitic diseases. Among infectious diseases, lung diseases play a major role in terms of reduced conversion rate, reduced growth rate and increased catarrhal lesions, as well as due to their higher prevalence than other diseases.This study was designed and conducted to provide a picture of the causes of lung and respiratory infections in sheep of Lorestan Agro-Industrial Complex.

Materials and Methods: For this purpose of 200 swap samples were taken from the nose of sheep with respiratory symptoms and runny nose from Lorestan industrial samples were cultured on blood, McConkey and PPLO agars. Medias were placed under aerobic and anaerobic conditions and the isolated agents were identified by biochemical and molecular methods.

Results: Out of a total of 200 samples, 34, 23, 18 and 12 cases were infected with the *Manhemia hemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, respectively. 133 samples (66.5%) have no significant bacterial infection.

Conclusion: It is concluded that 38.5% of the respiratory problems of sheep in Lorestan Agro-Industrial Complex are may be due to bacterial agents that need to be considered in the implementation of control programs and prevention of sheep respiratory diseases in the above complex.

Keywords: sheep, Lorestan, Bacterial pulmonary lesions, bacterial examinations, PCR

Received: 2024.02.19 **Accept:2024.06.03** **Online Publish:2024.09.20**

Corresponding Information:

Mohammad Nazarpour, Professor, Department of pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of sharkard, sharkard, Iran

Email: m.nazarpor19801980@gmail.com

Copyright © 2023, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usage with proper citation.

دو فصلنامه
بهداشت و بیماری های عفونی دام
سال ۱ ، شماره ۲
صفحه مجله: https://jahid.lu.ac.ir/

بررسی علل باکتریایی بیماری های تنفسی گوسفندهای کشت و صنعت لرستان

محمد نظرپور [۱*]، ایرج کریمی [۲]

۱. دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. استاد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

چکیده

زمینه و هدف: گوشت قرمز غنی‌ترین و مهم‌ترین منبع پروتئین مورد نیاز بشر است. یکی از مهم‌ترین منابع تأمین گوشت قرمز در کشور گوشت گوسفند است. امروزه به‌دلیل وجود محدودیت‌هایی در پرورش گوسفند و ازطرفی تقاضای فراوان گوشت گوسفند در جامعه، مسئلهٔ کاهش ضایعات کشتارگاهی و بهینه‌سازی پرورش از مسائل مهم و ارزشمند در پرورش این حیوان باارزش است. مشکلات تنفسی، یکی از مهم‌ترین دلایلِ ضررهای اقتصادی گوسفدداری‌هایند. عفونت‌های تنفسی می‌تواند ناشی از عوامل باکتریایی، انگلی، قارچی و ویروسی ایجاد شود. این پژوهش به‌منظور ارائهٔ تابلویی از عوامل باکتریایی ایجادکنندهٔ عفونت ریوی و تنفسی گوسفندان مجتمع کشت و صنعت لرستان طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها: برای منظور تعداد ۲۰۰ نمونه سوآب از بینی گوسفندان با علائم تنفسی و آب‌ریزش بینی از مجتمع کشت و صنعت لرستان گرفته شد. نمونه‌های گرفته‌شده در محیط‌های آگار خون، مک کانکی و آگار PPLO در شرایط هوازی و نیز بی‌هوازی کشت داده شد و عوامل جداسازی‌شده با روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی تعیین هویت شدند.

یافته‌ها: از مجموع ۲۰۰ نمونهٔ بررسی‌شده، به ترتیب ۳۴، ۲۳، ۱۸ و ۱۲ مورد آلودگی حائزاهمیت به باکتری‌های *منهمیا هموليتيكا*، *پاستورلا مولتوسیدا*، *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* داشتند. تعداد ۱۳۳ نمونه (۶۶/۵ درصد) آلودگی مهم باکتریایی نداشتند.

نتیجه گیری: نتیجه‌گیری شد که احتمال دارد ۳۸/۵درصد از مشکلات تنفسی گوسفندان کشت و صنعت لرستان، ناشی از عوامل باکتریایی باشد که لازم است در اجرای برنامه‌های کنترل و پیشگیری بیماری‌های تنفسی گوسفند در مجتمع یادشده مدنظر قرار گیرد.

کلیدواژه ها: گوسفند، مجتمع کشت و صنعت لرستان، ضایعات ریوی باکتریایی، آزمایشات باکتریای، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۳۰ **پذیرش:۱۴۰۳/۰۳/۱۴** **انتشار آنلاین:۱۴۰۳/۰۶/۳۰**

۱. **اطلاعات نویسنده مسئول: محمد نظرپور،** دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد باکتری‌شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکدهٔ دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران. Email: m.nazarpor19801980@gmail.com

حق چاپ © ۲۰۲۳، این یک مقاله با دسترسی آزاد اصلی است که تحت شرایط Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License توزیع شده است که اجازه کپی و توزیع مجدد مطالب را فقط در استفاده غیرتجاری با استناد مناسب می دهد.

مقدمه

پرورش گوسفند در کشورهای حوزهٔ مدیترانه، آفریقا و جنوب شرقی آسیا به‌منظور تأمین گوشت، شیر و پشم، صنعت پررونقی است. نشخوارکنندگان ازجمله گوسفند به بیماری‌های تنفسی بسیار حساس هستند و عفونت تنفسی یکی از بیماری‌های شایع این حیوانات را تشکیل می‌دهد (۱). صرف‌نظر از علت، ۵/۶درصد از کل بیماری‌های نشخوارکنندگان کوچک را بیماری‌های تنفسی شامل می‌شوند (۱). اختلالات عفونی دستگاه تنفس شامل بیماری‌های بخش بالایی این دستگاه (مانند سینوزیت) و بخش پایینی این دستگاه (مانند پنومونی) است (۲). بیماری‌های بخش پایینی دستگاه تنفس بیشتر منشأ عفونی (باکتریایی، ویروسی، انگلی یا قارچی) دارند. با این حال، آلاینده‌های محیطی، مواد سمی و عوامل مکانیکی نیز ممکن است در این دسته از مشکلات تنفسی نقش داشته باشند. بسته به عوامل محیطی، فیزیولوژیکی و اتیولوژیکی، بیماری‌های تنفسی ممکن است حاد، مزمن یا پیشرونده باشند (۳).

بیماری‌های تنفسی در همهٔ کشورهای مهم تولیدکنندهٔ گوسفند منجربه مرگ‌ومیر بره‌ها، کاهش سرعت رشد و افت کیفیت لاشه شده، درنتیجه خسارت اقتصادی زیادی بر دامدار تحمیل می‌کند. هزینه‌های مربوط به درمان و واکسیناسیون نیز باعث افزایش زیان‌های ناشی از این عارضه می‌شوند (۴).

سن، موقعیت جغرافیایی، تغذیه، آب‌وهوا، سطح بهداشت و تغییرات ناگهانی جیره از عوامل مؤثر بر بروز پنومونی‌ها هستند (۵). دامنهٔ گسترده‌ای از باکتری‌ها موفق به راهیابی در دستگاه تنفسی فوقانی و حتی تحتانی می‌شوند، ولی به‌طور معمول دستگاه ایمنی در مقابله و حذف اجرام موفق بوده و درگیری تنفس رخ نمی‌دهد، ولی تحت شرایط خاص مانند وجود عوامل تنش‌زا، برخی اجرام پس از استقرار و تکثیر اولیه در بینی و گلو، به‌سمت بخش‌های عمقی دستگاه تنفس انتشار یافته و باعث پنومونی (سینه‌پهلو) می‌شوند. در این موارد در صورت درگیری شدید تنفسی یا انتشار عامل به جریان خون و درگیری سایر بخش‌ها، ممکن است مرگ نیز عارض شود (۶-۴).

عوامل مستعدکنندهٔ بیماری‌های تنفسی به‌طور عمده با مدیریت مرتبط هستند و شامل هر گونه استرس ازقبیل از شیر گرفتن، حمل‌ونقل، بیماری‌های هم‌زمان، شرایط اقلیمی نامناسب (گرما یا سرمای زیاد)، زایمان، تغییرات جیره، تهویهٔ نامناسب، ازدحام بیش‌ازحد و غیره‌اند (۷). در مکان‌هایی با دستگاه تهویهٔ نامناسب، بروز بیماری‌های ویروسی و نقص ایمنی متعاقب آن، باعث بروز بیشتر عفونت‌های باکتریایی دستگاه تنفس مانند منهمیوز (*منهمیا هموليتيكا*) و پاستورلوز (*پاستورلا مولتوسیدا*) می‌شود (۸).

گاهی برای درمان بیماری‌های تنفسی بدون توجه به عوامل ایجادکننده از داروهای مختلفی استفاده می‌شود و چه‌بسا استفادهٔ مکرر از داروهای غیراختصاصی و بعضاً غیرمؤثر باعث زیان اقتصادی، مقاومت دارویی و مخاطرات بهداشتی شود، بنابراین در هر منطقه به‌منظور کاهش ضرر و زیان اقتصادی ناشی از تلفات، افت تولید و درمان بیماری‌ها، اطلاع از عوامل ایجادکنندهٔ بیماری ازجمله بیماری‌های تنفسی برای انتخاب روش درمانی و پیشگیرانهٔ مناسب و راه‌اندازی روش‌های سریع و دقیق تشخیص عامل ضروری خواهد بود (۸).

در ایران به‌دلیل وجود شرایط اقلیمی مناسب از دیرباز پرورش و نگهداری گوسفند بای تأمین گوشت و شیر متداول بوده است و مطالعات متعددی برای بهبود بهره‌وری پرورش گوسفند انجام گرفته است. ازجمله تحقیقات یادشده، پایش عوامل میکروبی دخیل در بیماری‌های عفونی گوسفند بوده است که لازمهٔ در پیش گرفتن رویکرد مدیریتی و بهداشتی مناسب در پرورش گوسفند است. به‌دلیل راحتی نگهداری و پرورش گوسفند در کشور و نقاط مختلف دنیا، این حیوان یکی از منابع مهم و اصلی تأمین گوشت قرمز در ایران و جهان است. بررسی، تشخیص و شناسایی عوامل و دلایل ایجادکنندهٔ ضایعات کشتارگاهی گوسفند می‌تواند باعث افزایش میزان تولید در گوشت قرمز و بازدهی اقتصادی بیشتر این صنعت شود (۹, ۱۰).

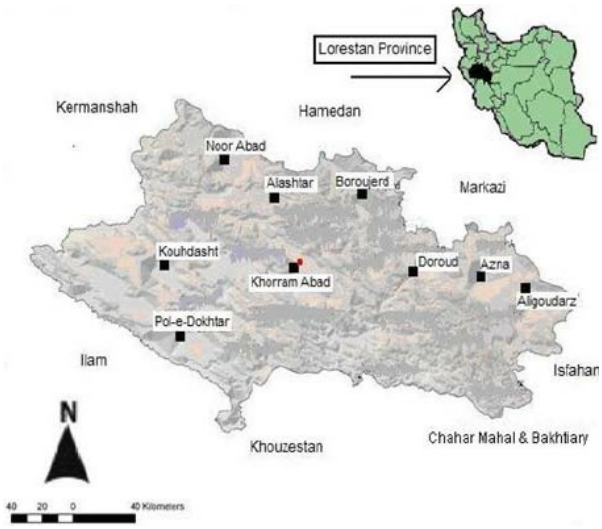
مهم‌ترین بخش در دستگاه تنفس جانوران ریه‌ها هستند. کارایی سایر دستگاه‌های بدن وابسته به دستگاه تنفس است. وابستگی حیات جانوران به اکسیژن، غیرارادی بودن تنفس و حجم بالا و چشمگیر هوا ورودی به ریه‌ها می‌تواند از دلایل حساسیت بی‌بدیل این دستگاه در مقایسه با عوامل آسیب‌رسان تلقی شود. رابطهٔ دستگاه تنفس با دستگاه قلبی و عروقی باعث حساس بودن ریه‌ها به جرم‌های بیماری‌زای احتمالی موجود در جریان خون می‌شود. عامل‌های مهم و بیماری‌زایی مانند عامل‌های عفونی و گازهای سمی و برخی میکروب‌های موجود در هوای تنفسی می‌توانند ضایعات و آسیب‌های ریوی شدیدی را ایجاد کنند. هزینه‌های درمان و مرگ‌ومیر ناشی از

بیماری تنفسی زیاد و چشمگیر بوده و باعث ایجاد خسارات اقتصادی در صنعت دامپروری می‌شود (۱۱). با توجه با اینکه گاهی ریه‌های گوسفند مصرف خوراکی نیز دارند، مطالعهٔ ضایعات ریوی این حیوان، می‌تواند ازنظر بهداشت عمومی نیز اهمیت داشته باشد. با توجه به موارد گفته‌شده، مطالعهٔ حاضر نیز برای اطلاع از عوامل باکتریایی دخیل در اختلالات تنفسی گوسفندان مجتمع کشت و صنعت لرستان طراحی شد.

مواد و روش کار

منطقهٔ مطالعه‌شده

استان لرستان یکی از کانون‌های اصلی کشاورزی و دامپروری در ایران بوده و تولیدات دامی آن (گوشت قرمز و شیر خام) شهرت خاصی دارد. این استان با داشتن حدود ۶/۵ میلیون واحد دامی، ۵/۵درصد جمعیت دامی کشور را در خود جای داده و از این نظر دارای رتبهٔ ششم در بین استان‌های کشور است. این استان آب‌وهوای مدیترانه‌ای معتدل و نیمه‌مرطوب دارد و میزان بارندگی استان، به‌خصوص در فصل بهار چشمگیر است (نقشهٔ لرستان- ایران). این استان در تولید محصولات کشاورزی و دامی بسیار حائزاهمیت است.



شکل ۱) منطقه مطالعه‌شده، استان لرستان

تعیین هویت باکتری‌های جداشده

ابتدا باکتری‌های واجد اهمیت جداشده برمبنای خصوصیات کلنی در محیط آگار خون‌دار خالص‌سازی شدند و سپس با استناد به منابع معتبر (۱۲) و با تهیهٔ گسترش‌های تثبیت‌شده و لام مرطوب ویژگی‌های میکروسکوپی (شکل باکتری، گرم مثبت یا منفی بودن آن و متحرک بودن یا نبودن آن) و بیوشیمیایی (انجام آزمایش‌های کاتالاز، اکسیداز و واکنش در محیط‌های OF، سیمون سیترات، TSI، MR-VP، SIM، اوره و غیره) تعیین هویت شدند.

تعیین هویت مولکولی با PCR

جدایه‌های مشکوک به *منهمیا همولیتیکا*، *پاستورلا مولتوسیدا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی و با تکنیک PCR و براساس پرایمرهای اختصاصی و شرایط دمایی گفته‌شده در جدول شماره ۱ شناسایی و تأیید شدند.

استخراج DNA

برای استخراج DNA از روش جوشاندن به شرح زیر استفاده شد:

۱- با سر سمپلر استریل به ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر، ۳ تا ۴ کلنی از کشت تازه (۲۴ساعته) باکتری اضافه شد.

۲- سوسپانسیون ۱۰ ثانیه ورتکس شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰°C جوشانده شد.

۳- سوسپانسیون جوشانده‌شده به‌مدت ۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد.

۴- مایع رویی برداشت شد و به‌عنوان الگو در PCR به‌کار گرفته شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرآز (PCR)

ابتدا شرایط بهینهٔ چرخهٔ حرارتی PCR برای تکثیر ژن‌های اختصاصی *استافیلوکوکوس اورئوس*، و *پاستورلا مولتوسیدا* با پرایمرهای مندرج در جدول ۳-۳ تعیین شد که برای هر سه ژن طبق شرایط درج‌شده در جدول ۱ بود. مراحل PCR در میکروتیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتر استریل و در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) انجام شد. تکثیر ژن‌ها با PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس آمپلیکون (شامل آنزیم پلی‌مرآز Taq، dNTP و $MgCl_2$)، ۵ میکرولیتر آب مخصوص PCR، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ میکرومولار) و ۳ میکرولیتر از DNA استخراج شده بود.

ارزیابی محصول PCR

پس از اتمام مرحلهٔ PCR، ۶ میکرولیتر از محصول PCR در کنار نردبان ژنی bp ۱۰۰ یا ۵۰ (سیناژن) و محصول شاهدهای مثبت و منفی در ژل آگارز ۱/۵درصد حاوی Safe Stain (سیناژن، ایران) با جریان ۹۰ ولت به‌مدت ۳۵ دقیقه الکتروفورز و در دستگاه ژل داک مشاهده شد.

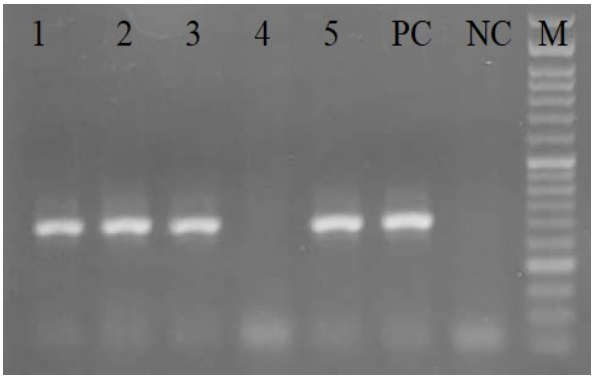
ژن	پرایمر	سکانس	طول محصول (جفت باز)	نام باکتری		منابع
16SrRNA	F	5'- GCTAACTCCGTGCCAGCAG-3'	304	*M.hemolytica*	95°C- 3 min; 35 × (95°C- 30 s, 60°C-30 s, 72°C- 30 s); 72°C- 3 min.	(۱۳)
	R	5'- CGTGGACTACCAGGGTATCTAATC-3'				
kmt1	F	5'- ATCCGCTATTTACCCAGTGG-3'	460	*P.multocida*	95°C- 3 min; 35 × (95°C- 30 s, 55°C-30 s, 72°C- 30 s); 72°C- 3 min.	(۱۴)
	R	5'- GCTGTAAACGAACTCGCCAC-3'				
nuc	F	5'-GCGATTGATGGTGATACGGTT-3'	280	*Staph.aureus*	95°C- 3 min; 35 × (95°C- 30 s, 55°C-30 s, 72°C- 30 s); 72°C- 3 min.	(۱۵)
	R	5'-AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC-3'				

جدول ۱) پرایمرها و برنامهٔ حرارتی استفاده‌شده در PCR برای ردیابی ژن‌های اختصاصی *منهمیا هموليتيكا*، *پاستورلا مولتوسیدا* و *استافیلوکوکوس اورئوس*.

نتایج

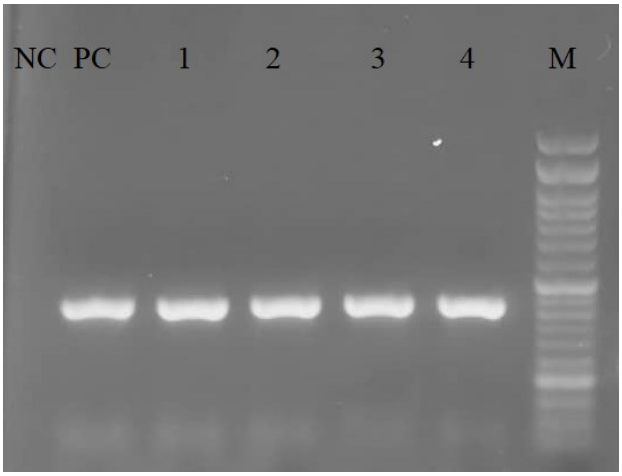
میزان شیوع و آلودگی گوسفندان کشت صنعت به باکتری‌های مطالعه‌شده

از ۲۰۰ نمونه سوآب گرفته‌شده از تعداد ۳۴ نمونهٔ *منهمیا هموليتيكا*، از ۲۳ نمونه *پاستورلا مولتوسیدا*، از ۱۸ نمونهٔ *اشریشیا کلی* و از ۱۲ نمونه نیز *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شد. تعداد ۱۱۳ نمونه نیز فاقد آلودگی قابل‌توجه به باکتری‌های پاتوژن بودند. از هیچ‌یک از نمونه‌ها در محیط PPLO آگار باکتری مشکوک به *مایکوپلاسما* جدا نشد. از هیچ‌یک از نمونه‌ها نیز باکتری بی‌هوازی مطلق جدا نشد. جدایه‌های مشکوک به *منهیمیا هموليتيكا* (باکتری‌های کوکوباسیل گرم‌منفی، اکسیداز و کاتالاز مثبت، قادر به رشد روی محیط مک کانکی، اندول منفی و همولیتیک)، تأیید مولکولی نیز شدند و با پرایمرهای اختصاصی محصولی با طول حدود ۳۰۴ جفت باز تولید کردند (شکل ۲).



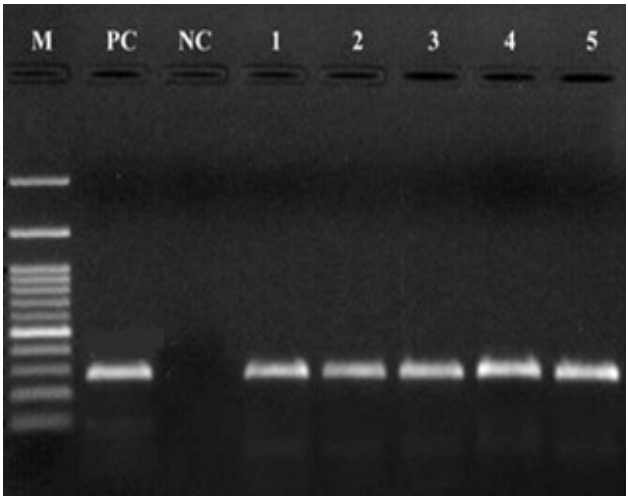
شکل ۲) الکترفورز محصول PCR ژن‌های *16SrRNA منهمیا هموليتيكا* بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد. چاهک M: مارکر ۵۰ جفت بازی (سیناژن، ایران)، چاهک‌های ۱– ۳ و ۵: نمونه‌های مثبت، چاهک ۴: نمونهٔ منفی، PC: کنترل مثبت، NC: کنترل منفی

جدایه‌های مشکوک به *پاستورلا مولتوسیدا* (باکتری‌های کوکوباسیل گرم‌منفی، اکسیداز و کاتالاز مثبت، غیر قادر به رشد روی محیط مک کانکی، اندول مثبت و غیرهمولیتیک)، تأیید مولکولی نیز شدند و با پرایمرهای اختصاصی محصولی با طول حدود ۴۶۰ جفت باز تولید کردند (شکل ۳).



شکل ۳) الکترفورز محصول PCR ژن‌های *kmt1پاستورلا مولتوسیدا* بر روی ژل آگاروز ۱/۵درصد. چاهک M: مارکر ۵۰ جفت بازی (سیناژن، ایران)، چاهک‌های ۱– ۴: نمونه‌های مثبت، PC: کنترل مثبت، NC: کنترل منفی

جدایه‌های مشکوک به *اشریشیا کلی* (باکتری‌های کوکوباسیل گرم‌منفی، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت، قادر به رشد روی محیط مک کانکی، اندول مثبت، MR مثبت، VP منفی، سیترات منفی و واجد جلای سبز فلزی در محیط EMB)، بدون اینکه تأیید مولکولی شوند، *اشریشیا کلی* در نظر گرفته شدند. جدایه‌های مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* (باکتری‌های کوکسی گرم مثبت، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت، غیرقادر به رشد روی محیط مک کانکی، واجد همولیز دوگانه)، مورد تأیید مولکولی نیز قرار گرفتند و با پرایمرهای اختصاصی محصولی با طول حدود ۲۸۰ جفت باز تولید کردند (شکل ۴).



شکل ۴: الکتروفورز محصول PCR ژن‌های *nuc* *استافیلوکوکوس اورئوس* بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد. چاهک M: مارکر با ۱۰۰ جفت بازی (سیناژن، ایران)، چاهک‌های ۵–۱ نمونه‌های مثبت، PC: کنترل مثبت، NC: کنترل منفی

بحث

گوسفند ازجمله نشخوارکنندگان پرواری در سراسر جهان است. برآورد شده است که در سال ۲۰۲۰ میلادی حدود ۱۵/۳میلیون تن گوشت گوسفند و بز عرضه و مصرف شده است که پیش‌بینی می‌شود این رقم به ۱۷میلیون تن در سال ۲۰۲۸ برسد (۵۴). علاوه‌بر گوشت، محصول‌های دیگر گوسفند نظیر شیر، پشم و چرم نیز حائزاهمیت است. نشخوارکنندگان کوچک به‌ویژه گوسفند نقش بسزایی در ایجاد امنیت غذایی و توسعه در مناطق فقیر و روستایی در بسیاری از مناطق جهان دارند. بزرگ‌ترین کشورهای اروپایی تولیدکنندهٔ گوسفند، انگلیس و در رتبهٔ دوم اسپانیا هستند (۱۶).

پنومونی‌های باکتریایی، ازجمله بیماری‌های واگیردارند که به‌وسیلهٔ باکتری‌هایی مانند *پاستورلا مولتوسیدا*، *منهمیا هموليتيكا*، *مایکوپلاسما*ها و سایر عوامل ایجاد می‌شوند و همه‌ساله در سطح جهان خسارات اقتصادی چشمگیری را به صنعت پرورش گوسفند وارد می‌کنند. اشکال ریوی پاستورلوز و منهمیوز اغلب با سپتی‌سمی، واگیری و تلفات زیادی همراه است و وقوع آن در گله‌های گوسفند به‌وفور گزارش شده است. درحال‌حاضر یکی از روش‌های مقابله با این دسته از پنومونی‌ها استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها است. با توجه به احتمال بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها و به‌دنبال آن بی‌تأثیری داروها بر روند بیماری و مخاطراتی که مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها برای بهداشت عمومی دارند، بهتر است مقابله با این اجرام بر واکسیناسیون متمرکز شود که لازمهٔ این مهم، اطلاع از عوامل دخیل در پنومونی‌های گوسفندان هر منطقه است و تحقیق پیش‌رو نیز با این هدف در گوسفندهای کشت و صنعت لرستان انجام شد.

در بررسی حاضر، با روش‌های کشت باکتریایی، آزمون‌های بیوشیمیایی و PCR، از مجموع ۲۰۰ سوآب بینی، تعداد ۳۴ جدایه (۱۷درصد) *منهمیا هموليتيكا* و ۲۳ جدایه (۱۱/۵درصد) *پاستورلا مولتوسیدا* جدا شد؛ بنابراین براساس یافته‌های این پژوهش باکتری‌های *پاستورلا مولتوسیدا* و *منهمیا هموليتيكا* در میان جمعیت مطالعه‌شده، میزان شیوع بیشتری در مقایسه با *اشریشیا کلی* (۹ درصد) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (۶ درصد) داشتند.

باکتری *منهمیا هموليتيكا* معمولا از مسیرهای تنفسی گوسفندان سالم جداسازی می‌شود (۱۷) و معتقدند که سویه‌های مهاجم *منهمیا هموليتيكا* از بخش‌های بالایی دستگاه تنفسی به قسمت‌های پایینی نفوذ می‌کنند (۱۸). به‌دنبال قرار گرفتن دام در شرایط پرتنش یا پس از وقوع سایر با بیماری‌های عفونی، این باکتری به‌سرعت در قسمت‌های بالایی دستگاه تنفسی تکثیر می‌کند و به ریه‌ها گسترش یافته و برونکوپنومونی به‌وجود می‌آورد (۱۹). با وجود این، درخصوص پاتوژن اولیه بودن یا پاتوژن فرصت‌طلب بودن این جرم هنوز تردید وجود دارد (۱۸, ۲۰) اما جداسازی این باکتری حتی از ترشحات بینی در صورتی که آلودگی زیاد (کشت ۳ مثبت یا ۴ مثبت) باشد، باید مهم در نظر گرفته شود. در مطالعهٔ حاضر از ۱۷درصد از نمونه‌ها *منهمیا هموليتيكا* جدا شد که تا حدودی با مطالعات مشابه تطابق (۲۱, ۲۲) دارد. در مقایسه با مطالعهٔ پیش‌رو، آلودگی به *منهمیا هموليتيكا* شیوع تقریباً مشابهی در ریه‌های ضایعه‌دار گوسفندان کشتارگاه‌شده در شیراز داشته است (۲۱) ولی بمانی و همکاران (۲۲) در اهواز با روش ایمونوپراکسیداز (۶۳/۰۷درصد) و کشت باکتریایی (۵۲/۳درصد) آلودگی بیشتری به *منهمیا هموليتيكا* را گزارش داده‌اند. در تحقیقات انجام‌شده در کشورهای دیگر، جداسازی *منهمیا هموليتيكا* از ریه، بینی و لوزه‌ها در محدودهٔ بین ۸/۹ تا ۹۶/۲ درصد گزارش شده است (۲۳–۲۷). تفاوت‌های مشاهده‌شده در میزان جداسازی این باکتری در پژوهش‌های مختلف را می‌توان به تفاوت‌ها در روش‌های تشخیصی، تنوع فصلی وقوع بیماری و اختلافات زمانی و مکانی نسبت داد (۲۸).

پاستورلا مولتوسیدا که در تحقیق حاضر دومین عامل عفونت‌های باکتریایی (با فراوانی ۱۱/۵درصد) تشخیص داده شد، در مطالعهٔ Azizi و همکاران در سال ۲۰۱۳ (۲۹) در بازرسی پس از کشتار ریهٔ گوسفندان در شهرکرد با فراوانی ۲۴/۵۳ درصد اولین عامل عفونت‌های باکتریایی

ریه‌های گوسفندان بوده است. *پاستورلا مولتوسیدا* به‌صورت عامل ثانویه پس از آلودگی با عوامل بیماری‌زای اصلی (مانند ویروس‌های تنفسی) باعث تشدید ضایعات می‌شود، یا متعاقب اثرگذاری عامل‌های مستعدکننده به‌تنهایی ایجاد ضایعه و بیماری می‌کند (۳۰, ۳۱). برخی مطالعات (۳۱) برروی ریه‌های طبیعی بز نشان داده است که ریه‌های سالم ممکن است آلودگی خفیفی به *پاستورلا مولتوسیدا* داشته باشند؛ بنابراین در بررسی حاضر نیز آلودگی‌های شدید و چشمگیر به این باکتری مهم در نظر گرفته شد. در بررسی Valadan و همکاران در سال ۲۰۱۴ برروی نمونه‌های ارسالی از سرتاسر ایران تمامی پاستورلاهای جداشده (۳/۷۱درصد) متعلق به گونهٔ *پاستورلا مولتوسیدا* بوده‌اند (۳۲). در بررسی Özyıldız و همکاران (۲۰۱۳) برروی ۱۱۰ قطعه ریهٔ مبتلا به پنومونی در ترکیه نیز آلودگی به *منهمیا هملولیتیکا* بیشتر از *پاستورلا مولتوسیدا* بوده است (۳۳).

صرف‌نظر از تفاوت‌های مشاهده‌شده در میزان جداسازی این باکتری در مطالعات مختلف که می‌تواند به‌علت تفاوت‌ها در روش‌های تشخیصی، تنوع فصلی وقوع بیماری و اختلافات زمانی و مکانی باشد؛ به نظر می‌رسد در اغلب مطالعات نقش *پاستورلا مولتوسیدا* در پنومونی‌های گوسفند برجسته بوده است.

اشریشیا کلی و *استافیلوکوکوس اورئوس* که در مطالعهٔ حاضر، ازجمله علل عفونت‌های تنفسی گوسفندان کشت و صنعت لرستان تشخیص داده شدند، در مطالعات مشابه انجام‌شده در ایران (۲۹, ۳۴) و خارج از کشور (۶, ۳۵, ۳۶) نیز از عفونت‌های تنفس گوسفند جدا شده‌اند. در بررسی Saleh و همکاران (۷۳) در مصر اگرچه این دو باکتری از درصدی از ریه‌های سالم گوسفند هم جدا شده است، ولی میزان جداسازی از ریه‌های درگیر به میزان قابل‌توجهی بیشتر بوده است. در بررسی Oruc (۲۰۰۷) در ترکیه نیز از ریهٔ بره‌های مبتلا به پنومونی، به ترتیب فراوانی سه باکتری *منهمیا هملولیتیکا*، *اشریشیا کلی* و *پاستورلا مولتوسیدا* جدا شده است (۳۵). در تحقیق Tiwariو همکاران (۲۰۲۱) در هند نیز در توافق با نتایج پژوهش حاضر ازجمله عوامل جداشده از موارد پنومنی گوسفند باکتری‌های *اشریشیا کلی* و استافیلوکوک بوده است (۳۶).

درمجموع با توجه به منابع صرف‌نظر از میزان اهمیت، ازجمله عوامل باکتریایی پنومونی‌های گوسفند باکتری‌های *منهمیا هملولیتیکا*، *پاستورلا مولتوسیدا*، *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* هستند که به‌ویژه در این میان نقش *منهمیا هملولیتیکا* و *پاستورلا مولتوسید* پررنگ‌تر است و لازم است در پیشگیری از این بیماری مهم مورد توجه قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

از آنجا که این عوامل باکتریایی جداشده در تحقیق حاضر می‌توانند به‌طور مستقل یا در مشارکت با سایر عوامل باعث ضایعات ریوی شدید، کاهش ضریب تبدل و ضررهای اقتصادی چشمگیر در کشت و صنعت لرستان شوند، برنامه‌ریزی برای کنترل و پیشگیری از عفونت‌های تنفسی گوسفند در مجتمع بالا ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

1. Rivas J, Perea JM, De-Pablos-Heredero C, Morantes M, Angon E, Barba C, García A. Role of technological innovation in livestock breeding programmes: A case of cereal-sheep system. Italian journal of animal science. 2019.
2 .Chakraborty S, Kumar A, Tiwari R, Rahal A, Malik Y, Dhama K, et al. Advances in diagnosis of respiratory diseases of small ruminants. Veterinary medicine international. 2014;2014.
3Lopez A, Martinson SA. Respiratory system, mediastinum, and pleurae. Pathologic basis of veterinary disease. 2017:471.
4. Thompson M. Respiratory diseases in sheep. Vet Pract Today. 2019;7(4):1-2.
5. Ali S, Zhao Z, Zhen G, Kang JZ, Yi PZ. Reproductive problems in small ruminants (Sheep and goats): A substantial economic loss in the world. Large Animal Review. 2019;25(6):215-23.
6. Saleh NS, Allam TS. Pneumonia in sheep: bacteriological and clinicopathological studies. American Journal of Research Communication. 2014;2(11):73-88.
7. Padalino B, Cirone F, Zappaterra M, Tullio D, Ficco G, Giustino A, et al .Factors affecting the development of bovine respiratory disease: a cross-sectional study in beef steers shipped from france to Italy. Frontiers in veterinary science. 2021;8:627894.
8. Sahay S, Natesan K, Prajapati A, Kalleshmurthy T, Shome BR, Rahman H ,Shome R. Prevalence and antibiotic susceptibility of Mannheimia haemolytica and Pasteurella multocida isolated from ovine respiratory infection: A study from Karnataka, Southern India. Veterinary World. 2020;13(9):1947.
9. Khodadadi S, Javanmard A, Rafat SA, Hasanpur K. The Situation of Goat Breeding from the Perspective of Livestock Breeders. Archives of Veterinary and Animal Sciences. 2022;4.(۲)
10. Ansari-Renani HR. An investigation of organic sheep and goat production by nomad

pastoralists in southern Iran. Pastoralism. 2016;6(1):8.
11. Carvalho O, Gonçalves C, Gómez-Soler M. Comparative physiology of the respiratory system in the animal kingdom. The open biology journal. 2011;4(351):35-46.
12. Markey B, Leonard F, Archambault M, Cullinane A, Maguire D. Clinical veterinary microbiology e-book: Elsevier Health Sciences; 2013.
13. Frank JA, Reich CI, Sharma S, Weisbaum JS, Wilson BA, Olsen GJ. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. Applied and environmental microbiology. 2008;74(8):2461-70.
14. Shayegh J, Parvizi M, Hejazi M. Diversity of caprine and ovine Pasteurella multocida isolates based on 16S rRNA gene sequencing. Iranian journal of veterinary research. 2010;11(4):373-8.
15. Ahmadi M, RAZAVI RS, AIREMLOU N. Evaluation of Streptococcus agalactiae detection by PCR in Milk and its comparison to other microbiological methods. 2009.
16. Cook E. Agriculture, forestry and fishery statistics: 2019 edition: Publications Office of the European Union.۲۰۱۹ ;
17. Angen Ø, Thomsen J, Larsen LE, Larsen J, Kokotovic B, Heegaard PM, Enemark JM. Respiratory disease in calves: microbiological investigations on trans-tracheally aspirated bronchoalveolar fluid and acute phase protein response. Veterinary Microbiology. 2009;137(1-2):165-71.
18. Timsit E, Christensen H, Bareille N, Seegers H, Bisgaard M, Assié S. Transmission dynamics of Mannheimia haemolytica in newly-received beef bulls at fattening operations. Veterinary microbiology. 2013;161(3-4):295-304.
19. Singh K, Ritchey J, Confer A. Mannheimia haemolytica: bacterial–host interactions in bovine pneumonia. Veterinary Pathology. 2011;48(2):338-48.
20. Klima CL, Alexander TW, Hendrick S, McAllister TA. Characterization of Mannheimia haemolytica isolated from feedlot cattle that were healthy or treated for bovine respiratory disease. Canadian Journal of Veterinary Research. 2014;78(1):38-45.
21. Tabatabaei M, Abdollahi F. Isolation and identification of Mannheimia haemolytica by culture and polymerase chain reaction from sheep's pulmonary samples in Shiraz, Iran. Veterinary World. 2018;11(5):636.
22. Bemani E, Esmaeilzadeh S, Gharibi D, Ghorbanpoor M. Immunohistochemical and bacteriological investigations of Mannheimia haemolytica in sheep bronchopneumonia . Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2017;23.(۱)
23. Al-Tarazi Y, Dagnall G. Nasal carriage of Pasteurella haemolytica serotypes by sheep and goats in Jordan. Tropical Animal Health and Production. 1997;29:177-9.
24. Hussain R, Mahmood F, Ali HM, Siddique AB. Bacterial, PCR and clinico-pathological diagnosis of naturally occurring pneumonic pasturellosis (mannheimiosis) during subtropical climate in sheep. Microbial pathogenesis. 2017;112:176-81.
25. Marru HD, Anijajo TT, Hassen AA. A study on Ovine pneumonic pasteurellosis: Isolation and Identification of Pasteurellae and their antibiogram susceptibility pattern in Haramaya District, Eastern Hararghe, Ethiopia. BMC Veterinary Research. 2013;9(1):1-8.
26. Kaoud H, El-Dahshan A, Zaki M, Nasr SA. Occurrence of Mannheimia haemolytica and Pasteurella trehalosi among ruminants in Egypt. New York Science Journal. 2010;3(5):135-41.
27. Sisay T, Zerihun A. Diversity of Mannheimia haemolytica and Pasteurella trehalosi serotypes from apparently healthy sheep and abattoir specimens in the highlands of Wollo, North East Ethiopia. Veterinary research communications. 2003;27:3-14.
28. Poulsen LL, Reinert TM, Sand RL, Bisgaard M, Christensen H, Olsen JE, et al. Occurrence of haemolytic Mannheimia spp. in apparently healthy sheep in Norway. Acta Veterinaria Scandinavica. 2006;48(1):1-7.
29. Azizi S, Korani FS, Oryan A. Pneumonia in slaughtered sheep in south-western Iran: pathological characteristics and aerobic bacterial aetiology. Veterinaria Italiana. 20:109: (1) 13-18.
30. Prescott JF, MacInnes JI, Van Immerseel F, Boyce JD, Rycroft AN, Vázquez-Boland JA. Pathogenesis of bacterial infections in animals: Wiley Online Library; 2022.
31. Edition F. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 2010.
32. Valadan M, Jabbari A, Niroumand M, Tahamtan Y, Bani Hashemi S. Isolation and identification of Pasteurella multocida from sheep & goat in Iran. Archives of Razi Institute. 2014;69(1):47-55.
33. Ozyildiz Z, OY T, Yilmaz R, SY O, Keskin O. Pathological and microbiological investigations of pneumonic pasteurellosis in sheep. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2013;19 (
34. GHADRDAN MA, ASGARI BM, SAFARI DH, ASHRAFI TI. A SURVEY ON ROLE OF MANNHEIMIA HAEMOLYTICA IN SHEEP PNEUMONIA IN GARMSAR.

35. Oruc E. The pathologic and bacteriologic comparison of pneumonia in lambs. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences. 2006;30(6):593-9.
36. Tiwari RK, Galav V, Sharma SK, Marodia S, Kumar B, Agrawal M. Occurrence and aetio-pathological study on interstitial pneumonia of sheep (Ovis aries). methods. 2021;11:12.