

## اثر فصل بر روی باکتری های هوازی فلور ملتحمه چشم اسب های سالم

عراقی سوره، ع.<sup>۱</sup>، نادعلیان، م.ق.<sup>۲</sup>، مخبر دزفولی، م.ر.<sup>۲</sup>.

دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۱۵ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۰۲

### خلاصه

اهداف این تحقیق شامل شناسایی باکتری های هوازی موجود در کیسه ملتحمه چشم اسب های سالم، تعیین تغییرات احتمالی آنها در فصول مختلف سال و تعیین میزان حساسیت جدایه ها به آنتی بیوتیک های مختلف می باشد. نمونه گیری به مدت یکسال و در ماه های میانی هر فصل، از کیسه ملتحمه پائینی هر دو چشم سالم ۲۱ اسب (۱۰ راس نر و ۱۱ راس ماده) انجام شد و بر روی محیط های بلاد آگار و مک کانگی آگار کشت هوازی صورت گرفت. در کل تعداد ۱۰ جنس مختلف از باکتری ها (۳ جنس گرم مثبت و ۷ جنس گرم منفی) شناسایی گردید. باکتری های گرم مثبت با فراوانی ۵۹/۰۴٪ جدایه های غالب بودند. باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، کلبسیلاکسی توسا، استرپتوکوک های بتاهمولتیک و اشریشیا کلی فراوان ترین جدایه ها بودند. مطابق آنالیز آماری فراوانی باسیلوس سرئوس در فصل بهار، اشریشیا کلی در فصل تابستان و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در فصل پاییز معنی دار بود. در جنس نر باکتری کلبسیلاکسی توسا در فصل بهار و در جنس ماده باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در فصل تابستان فراوانی معنی داری داشتند. نتایج حاصل از آنتی بیوگرام حاکی از حساسیت ۱۰۰ درصد جدایه ها به آنتی بیوتیک های سفتریوفور و فلورفنیکل و حساسیت ۱۰۰ درصد باکتری های گرم منفی به آنتی بیوتیک جنتامایسین می باشد. گونه های باکتریایی جدا شده در این تحقیق قابل مقایسه با مطالعات انجام شده بر روی اسب های دیگر کشور ها است.

**واژه های کلیدی:** فلور باکتریایی، ملتحمه، اسب، فصل.

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، ارومیه، ایران.

۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

## نمونه گیری

برای انجام تحقیق حاضر به مدت یکسال در ماه های میانی هر فصل از چشم سالم ۲۱ اسب (۱۰ راس نر و ۱۱ راس ماده) ما بین سنین ۲-۶ سال، واقع در یکی از باشگاه های سوارکاری شهرستان ارومیه نمونه گیری انجام می شد. پس از مقید کردن فیزیکی اسب ها توسط لواشه و معاینه و اطمینان از سلامت ساختارهای سطحی چشم و بافت های اطراف (رد وجود هرگونه نشانه التهاب از جمله ترشح و پرخونی ملتحمه، زخم و یا کدورت قرنیه، تورم بافت های حدقه و ریزش مو در پلک ها و پوست اطراف چشم) با استفاده از سوپ های استریل مرطوب شده در محیط انتقالی استوارت (Merck)، از کیسه ملتحمه پائینی هر دو چشم نمونه گیری می شد و درون لوله های استریل حاوی محیط انتقالی استوارت و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل می گردید.

## کشت

در آزمایشگاه بلافاصله نمونه ها در محیط های بلاد آگار (Merck) و مک کانکی آگار (liofilchem) کشت می شد و پلیت ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد در شرایط هوازی انکوبه می شدند. پس از تشکیل پرگنه ها و ثبت مورفولوژی آنها با تهیه گسترش، رنگ آمیزی گرم انجام می گرفت. تعدادی از پلیت های بلاد آگار واجد بیش از یک پرگنه بودند که جهت خالص سازی، کشت خطی انجام می شد. تشخیص نهایی باکتری ها با استفاده از محیط های کشت افتراقی شامل محیط (Himedia)، SIM (Himedia)، TSI (liofilchem)، سیمون سیترات (Merck)، اوره ها با آنتی بیوتیک های پلی میکسین، نوویوسین و باسیتراسین و انجام آزمایش های بیوشیمیایی شامل آزمایش کوآگولاز، کاتالاز و پتاس ۳٪ انجام گرفت (Quinn و همکاران، ۱۹۹۴).

## آنتی بیوگرام

برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری های جدا شده از روش انتشار دیسک Kirby-Bauer و بر روی محیط مولر هینتون آگار (liofilchem) استفاده گردید. دیسک های مورد آزمایش و غلظت بالقوه آنها (بر حسب میکروگرم) شامل: سفتری فور [۳۰]، فلور فنیکل [۳۰]، تیلوزین [۳۰]، لینکواسپکتین [۳۰]، فلومکوئین [۳۰]، انروفلوکساسین [۵]، اریتروماکسین [۱۵]، آموکسی سیلین [۲۵]، کلرامفنیکل [۳۰]، تری متوپریم [۵]، کلستین [۱۰]، جنتامایسین [۱۰]، تیمولین [۳۰] و نئوماکسین [۳۰] بودند. تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی بر اساس جدول NCCLS صورت گرفت (Quinn و همکاران، ۱۹۹۴).

طیف گسترده ای از باکتری ها، قارچ ها و دیگر ارگانیسم ها در سطح چشم حیوانات سالم یافت می شود (Andrew و همکاران، ۲۰۰۳؛ Davidson و همکاران، ۱۹۹۴؛ Gionfriddo و همکاران، ۱۹۹۱). برخی از این ارگانیسم ها با مصرف مواد مغذی، اشغال فضای سطحی و نیز تولید مواد مهار کننده (آنتی بیوتیک های پلی پپتیدی) از رشد اجرام پاتوژن فرصت طلب در لایه های سطحی چشم ممانعت بعمل می آورند (Gilger، Cann؛ ۲۰۰۵؛ Moore، ۱۹۹۵؛ Moore، ۱۹۸۴). پلک ها، لیزوزیم، بتالیزین، لاکتوفرین، ایمونوگلوبولین های ترشحی و لوکوسیت های موجود در لایه پیش اشکی از دیگر عوامل محافظت کننده سطح چشم می باشند (Eichenbaum و همکاران، ۱۹۸۷)، اما مهم ترین و مؤثرترین سد در برابر عفونت ارگانیسم های فرصت طلب، اپی تلیوم قرنیه می باشد، به همین دلیل اکثر بیماری های عفونی قرنیه در اسب پس از وارد آوردن ضربه به سطح چشم و تخریب اپی تلیوم قرنیه اتفاق می افتد (Andrew و همکاران، ۲۰۰۳؛ Nasisse و Nelms، ۱۹۹۲). از طرف دیگر، فلور نرمال چشم، پس از گسیختگی اپی تلیوم سطح قرنیه بعنوان عامل آغاز کننده عفونت های استرومای قرنیه مطرح می باشد (Peterson-jones، ۱۹۹۷؛ Moore و همکاران، ۱۹۸۳). فلور میکروبی نرمال سطح چشم در تعداد زیادی از حیوانات اهلی و وحشی بررسی شده است (Araghi-Sooreh و همکاران، ۲۰۱۳؛ Spinelli و همکاران، ۲۰۱۰؛ Sgorbini و همکاران، ۲۰۰۸؛ Tantivanich و همکاران، ۲۰۰۲؛ Dupont و همکاران، ۱۹۹۴؛ Moore و همکاران، ۱۹۸۸). بر اساس این مطالعات، باکتری های گرم مثبت هوازی شایع ترین میکروارگانیسم های جدا شده از سطح چشم حیوانات سالم می باشند. لیکن، فلور مذکور براساس متغیرهای جغرافیا (Gilger، ۲۰۰۵)، جایگاه نگه داری، بستر (Moore و همکاران، ۱۹۸۸؛ Moore، ۱۹۸۴) و فصل سال (Whitley و همکاران، ۱۹۸۳) تفاوت های بسیاری را نشان می دهند. اطلاع از میکروفلور نرمال سطح چشم، کلینیسین را قادر خواهد ساخت در صورت وقوع جراحات چشمی، حضور ارگانیسم های ویژه را در سطح چشم پیش بینی کرده و قبل از ایجاد جراحات جبران ناپذیر، درمان فوری و صحیح را آغاز کند (Mclaughlin و همکاران، ۱۹۸۳). اهداف این تحقیق شامل شناسایی باکتری های هوازی موجود در کیسه ملتحمه اسب های سالم، تعیین تغییرات احتمالی فلور باکتریایی ملتحمه در فصول مختلف سال و مشخص کردن طیف حساسیت آنتی بیوتیکی آنها می باشد. امید است که اطلاعات حاصل از این مطالعه در تعیین علل بالقوه عفونت های باکتریایی قرنیه چشم اسب در زمان های مختلف سال و درمان آن مفید قرار گیرد.

## آنالیز آماری

۱. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۵ و آزمون‌های General log-linear و Chi-square برای تعیین هر گونه اختلاف معنی دار در تعداد جدایه های بین گروه ها (فصل و جنس) استفاده گردید.۲. در آزمون های انجام گرفته ارزش P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

در مطالعه حاضر باکتری های گرم مثبت با فراوانی (۵۹/۰۴٪ از کل جدایه ها) و باکتری های گرم منفی با فراوانی (۴۰/۹۶٪ از کل جدایه ها) طی چهار فصل از ۱۰ رأس اسب نر و ۱۱ رأس اسب ماده جدا گردید. ۵۲/۴٪ باکتری ها از چشم راست و ۴۷/۴٪ آنها از چشم چپ جدا گردید. ۵۰/۳٪ باکتری ها از جنس نر و ۴۹/۷٪ از جنس ماده جدا گردید (جدول ۱). باکتری های گرم مثبت شامل: باسیلوس سرئوس (۲۶/۵٪)، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۲۵٪) و استرپتوکوک های بتاهمولیتیک (۷/۵۴٪) و باکتری های گرم منفی شامل: کلبسیلا اکسی توسا (۱۴/۴۶٪)، اشریشیا کلی (۶/۹۳٪)، پرویدنسیا آلکالی فاسینس (۶/۳۳٪)، ایتروباکتر ائروژنز (۵/۱۲٪)، سیتروباکتر دیپورسوس (۳/۹۲٪)، پرتئوس (۲/۴٪) و یرسینیا اینتروکولیتیکا (۱/۸٪) بودند. در فصل بهار فراوانی باسیلوس سرئوس ( $P=0/011$ )، در فصل تابستان فراوانی اشریشیا کلی ( $P=0/041$ ) و در فصل پاییز فراوانی استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ( $P=0/003$ ) معنی دار بود. در فصل زمستان تفاوت معنی داری در تعداد هیچ یک از باکتری ها دیده نشد. در جنس نر فراوانی باکتری کلبسیلا اکسی توسا در فصل بهار ( $P=0/035$ ) و در جنس ماده فراوانی باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در فصل تابستان معنی دار بود ( $P=0/044$ ).

## نتایج آنتی بیوگرام

تمامی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی جدا شده از چشم اسبان سالم به آنتی بیوتیک های سفتیوفور و فلورفنیکل حساس و نسبت به آنتی بیوتیک های تیمولین و کلرامفنیکل مقاوم بودند. جنتامایسین تنها آنتی بیوتیک موثر بر روی تمامی باکتری های گرم منفی بود (جدول ۲).

## بحث

در اکثر مطالعات انجام شده بر روی فلور باکتریایی کیسه ملتحمه حیوانات، باکتری های گرم مثبت جدایه های غالب هستند (Gilger, 2005). در مطالعه حاضر ۱۰ جنس مختلف از باکتری ها از ملتحمه چشم اسب های سالم جدا گردید. در این بین باکتری های گرم مثبت فقط با ۳ جنس باسیلوس، استافیلوکوکوس و استرپتوکوکوس،

۵۹/۴٪ جدایه ها را به خود اختصاص دادند. باکتری های مذکور به فراوانی از کیسه ملتحمه پستانداران اهلی و وحشی و پرندگان جدا شده است. جنس باسیلوس به عنوان فراوان ترین جدایه کیسه ملتحمه از الاغ (ناصری، ۱۳۹۰)، گاو (Kojouri و همکاران، ۲۰۰۷)، گوسفند (عراقی سوره و محمدمین زاده، ۱۳۸۹)، بز (Araghi-Sooreh و همکاران، ۲۰۱۳)، گاو میش کوهان دار آمریکایی (Davidson و همکاران، ۱۹۹۹)، شتر (Fahmi و همکاران، ۲۰۰۳) و خرگوش سفید نیوزلندی (Campbell و Okuda، ۱۹۷۴) گزارش شده است. جنس استافیلوکوکوس به عنوان فراوان ترین جدایه کیسه ملتحمه از اسب (Vidal و همکاران، ۲۰۱۰)، سگ (Prado، ۲۰۰۵)، گربه (Lilenbaum و Espinola، ۱۹۹۶)، خرگوش اهلی (Cooper و همکاران، ۲۰۰۱)، لاما (Gionfriddo و همکاران، ۱۹۹۱)، فیل آسیایی (Tantivanich و همکاران، ۲۰۰۲)، گاو میش رودخانه ای (Araghi-Sooreh و Hatami-Lorzini، ۲۰۱۲)، راکون (Spinelli و همکاران، ۲۰۱۰)، صاریغ (Pinard و همکاران، ۲۰۰۲) و پرندگان (Dupont و همکاران، ۱۹۹۴) گزارش شده است. جنس استرپتوکوکوس نیز به عنوان فراوان ترین جدایه کیسه ملتحمه از خوک (Davidson و همکاران، ۱۹۹۴) و گربه (Shewen و همکاران، ۱۹۸۰) گزارش شده است. در تحقیق حاضر باکتری های گرم منفی با ۷ جنس مختلف، فقط ۴۱/۶٪ جدایه های کیسه ملتحمه چشم اسب ها را به خود اختصاص دادند. از انواع باکتری های گرم منفی کلبسیلا اکسی توسا و اشریشیا کلی فراوان ترین هستند. اشریشیا کلی به عنوان فراوان ترین باکتری گرم منفی از کیسه ملتحمه سالم خوک (Davidson و همکاران، ۱۹۹۴)، گاو میش رودخانه ای (Araghi-sooreh و Hatami-Lorzini، ۲۰۱۲)، گوسفند (عراقی سوره و محمدمین زاده، ۱۳۸۹) و شتر (Fahmi و همکاران، ۲۰۰۳) گزارش شده است. در خصوص تأثیر فصل بر روی فلور باکتریایی سطح چشم اسبان نرمال، مطالعه Andrew و همکاران (۲۰۰۳)، حاکی از معنی دار نبودن تغییرات فصلی دیده شده در فلور باکتریایی بود. ولی در مطالعه حاضر در فصل بهار فراوانی باکتری باسیلوس سرئوس، در تابستان باکتری اشریشیا کلی و در پاییز باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس معنی دار بود. با توجه به بالا بودن آلودگی چشم‌ها در فصل تابستان به باکتری های بالقوه پاتوژن اشریشیا کلی، احتمال بالا بودن وقوع کراتیت‌های باکتریایی در این فصل قابل پیش بینی است. اشریشیا کلی به همراه دیگر باکتری های گرم منفی از جمله یزدوموناس ها نقش به سزایی در ایجاد عفونت های قرنیه اسب ایفا می کنند (Wada و همکاران، ۲۰۱۰؛ Sauer و همکاران، ۲۰۰۳؛ Moore و همکاران، ۱۹۹۵؛ Maclaughlin و همکاران، ۱۹۸۳؛

جدایه	تعداد جدایه (%)	کل	جنس		فصل		
			نر	ماده	بهار	تابستان	پائیز
باسیلوس سرئوس	۸۸(۲۶/۵)	۵۱(۳۰/۵۳)	۳۷(۲۲/۴۲)	۳۲(۳۶/۷۸)	۲۵(۲۸/۷۴)	۱۷(۳۳/۶۱)	۱۴(۱۶/۲۸)
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۸۳(۲۵)	۳۳(۱۹/۷۶)	۵۰(۳۰/۳)	۲۰(۲۲/۹۹)	۱۸(۲۰/۶۹)	۱۲(۱۶/۶۶)	۳۳(۳۸/۳۷)
کلسیلا اکسی توسا	۴۸(۱۴/۴۶)	۲۹(۱۷/۳۶)	۱۹(۱۱/۵۱)	۱۴(۱۶/۰۹)	۵(۵/۷۴)	۹(۱۲/۵)	۲۰(۲۳/۲۵)
استریتوکوک های بتاهمولیتیک	۲۵(۷/۵۳)	۱۳(۷/۷۸)	۱۲(۷/۲۷)	۷(۸/۰۴)	۵(۵/۷۴)	۱۰(۱۳/۸۹)	۳(۳/۴۹)
اشریشیا کلی	۲۳(۶/۹۳)	۱۰(۵/۹۹)	۱۳(۷/۸۷)	۶(۶/۹)	۱۰(۱۱/۵)	۵(۶/۹۴)	۲(۲/۳۳)
پرودنسیا آلکالی فاسینس	۲۱(۶/۳۳)	۱۰(۵/۹۹)	۱۱(۶/۶۶)	۲(۲/۳)	۹(۱۰/۳۴)	۶(۸/۳۳)	۴(۴/۶۵)
انتروباکتر ایروژنز	۱۷(۵/۱۲)	۱۱(۶/۵۹)	۶(۳/۶۳)	۳(۳/۴۵)	۳(۳/۴۵)	۵(۶/۹۴)	۶(۶/۹۸)
سیتروباکتر دایورسوس	۱۳(۳/۹۲)	۵(۲/۹۹)	۸(۴/۸۴)	۳(۳/۴۵)	۷(۸/۰۴)	۳(۴/۱۶)	—
پروتئوس	۸(۲/۴)	۴(۲/۳۴)	۴(۲/۴۲)	—	—	۵(۶/۹۴)	۳(۳/۴۹)
یرسینیا اینتروکولیتیکا	۶(۱/۸)	۱(۰/۶)	۵(۳/۰۳)	—	—	—	۱(۱/۱۶)

جدول ۰۱. باکتری های جدا شده از کیسه ملتحمه اسب های سالم در طول یکسال به تفکیک جنس و فصل سال

جدایه	کلسیلا اکسی توسا	اشریشیا کلی	یرسینیا اینتروکولیتیکا	پروتئوس	سیتروباکتر دایورسوس	باسیلوس سرئوس	انتروباکتر ایروژنز	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	استریتوکوکهای بتاهمولیتیک	پرودنسیا آلکالی فاسینس	دیسک
سفتی فور	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
فلور فینیکل	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
تابلوزین	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
لینکواسپکتین	I	I	S	S	S	S	R	I	I	I	I
فلومکوئین	I	S	S	I	I	S	I	S	S	S	I
تیامولین	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
انروفلوکساسین	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
اریترومایسین	R	R	R	I	R	R	R	R	S	R	R
آموکسی سیلین	S	S	S	S	R	I	S	R	S	I	S
کلرامفنیکل	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
نئومایسین	S	I	I	I	I	I	I	I	I	I	S
تری متوپریم	R	I	S	S	S	S	S	I	S	S	R
کلیستین	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
جنتامایسین	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S

R=مقاوم

I=حساسیت متوسط

S=حساس

جدول ۰۲. نتایج حاصل از آنتی بیوگرام باکتری های جدا شده از کیسه ملتحمه اسب های سالم در شهرستان ارومیه

از آماده شدن نتایج آنتی بیوگرام، استفاده از جنتامیسین، کلرامفنیکل و یا ترکیبی از باسیتراسین، نئومایسین و پلی میکسین B را توصیه کرده است (Rebhun, ۱۹۸۱). نتایج حاصل از مطالعات Mclaughlin و همکاران حاکی از مناسب نبودن ترکیب فوق برای درمان آغازین بیماری های سطح چشم اسب ها بوده و برای درمان اولیه عفونت های ناشی از باکتری های گرم مثبت، استفاده از سفالوتین یا آمپی سیلین بصورت تزریق زیر ملتحمه ای و کلرامفنیکل یا اریترومایسین بصورت موضعی توصیه می شود (Mclaughlin و همکاران، ۱۹۸۳). Johns و همکاران (۲۰۱۱)، نیز در مطالعه خود کلرامفنیکل و جنتامیسین را آنتی بیوتیک های موثر بر جدایه های ملتحمه اسب ها معرفی کردند. ولی در مطالعه حاضر هیچ یک از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی به کلرامفنیکل حساس نبود و در مورد اریترومایسین به استثنای استرپتوکوک ها و تا حدی پروتوس دیگر باکتری ها به آن مقاومت نشان دادند. در مطالعه Moore و همکاران (۱۹۹۵)، بر روی جدایه های کراتیت اسب ها نیز کلرامفنیکل روی هیچ کدام از باکتری های گرم مثبت و منفی موثر نبود، اما اریترومایسین با حساسیت ۹۱٪ بر روی باکتر های گرم مثبت موثر بود. با توجه به نتایج حاصل از آنتی بیوگرام جدایه ها در تحقیق حاضر، آن چه پیشنهاد می شود استفاده از آنتی بیوتیک های سفتیوفور و فلورفنیکل به همراه جنتامیسین برای درمان اولیه جراحات و عفونت های سطحی چشم در اسب های تحت مطالعه می باشد. گونه های باکتریایی جدا شده در این تحقیق قابل مقایسه با مطالعات انجام شده بر روی اسب های دیگر کشور ها است. باکتری های بالقوه پاتوژن در سطح چشم اسب های سالم حضور دارند. فراوانی باکتری های سطح چشم اسب ها بطور معنی داری تحت تاثیر فصل تغییر می یابند و جغرافیا تاثیر واضح در ترکیب فلور باکتریایی ملتحمه چشم حیوانات ایفا می کند، از این رو توصیه می شود در ایران با توجه به تنوع شرایط آب و هوایی، فلور چشم اسب ها در مناطق و فصول مختلف بطور جداگانه تعیین گردد

Rebhun, ۱۹۸۱; Gelatt, ۱۹۷۴; Burns, ۱۹۶۹). باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس با فراوانی ۳۰/۳٪ باکتری غالب جدا شده از جنس ماده بود و از طرف دیگر در فصل تابستان نیز بطور معنی داری بیشتر از دیگر باکتری ها از اسب های ماده جدا گردید ( $P < 0/05$ ). علی رغم غیر همولیتیک بودن استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، این باکتری از موارد عفونت های باکتریال قرنیه اسب ها گزارش شده است (Moore و همکاران، ۱۹۸۸; Mclaughlin و همکاران، ۱۹۸۳). بنابراین لازم است به هنگام انتخاب آنتی بیوتیک های مناسب برای درمان آغازین عفونت های چشمی در اسب های ماده توجه خاصی به این باکتری مبذول گردد. باکتری کلبسیلا اکسی توسا با فراوانی (۱۴/۲۱٪) بیشترین باکتری گرم منفی جدا شده در تحقیق حاضر محسوب می شود که در جنس نر و در فصل بهار به طور معنی داری بیشتر از دیگر باکتری ها جدا گردید ( $P < 0/05$ ). کلبسیلاها نیز با فراوانی (۲/۴٪)، از عفونت های چشمی گزارش شده اند (Mclaughlin و همکاران، ۱۹۸۳)، بنابراین توجه به این باکتری نیز به نوبه خود در انتخاب آنتی بیوتیک های مناسب حائز اهمیت خواهد بود. علاوه بر اشریشیا کلی، دیگر باکتری های بالقوه پاتوژن که در مطالعه حاضر از سطح چشم اسب های سالم جدا گردید ائروباکترها و استرپتوکوک های بتا همولیتیک می باشد. ارگانسیم اخیر به عنوان یکی از شایع ترین عوامل ایجاد کننده کراتیت های عفونی در اسب مطرح می باشد (Sauer و همکاران، ۲۰۰۳; Brooks و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین، برخی از باکتری های فرصت طلب که در مطالعه حاضر شناسایی شده اند، از اسب های مبتلا به کراتیت عفونی نیز جدا شده است (Mclaughlin و همکاران، ۱۹۸۳). از این رو اهمیت شناسایی و انجام تست حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه های چشم اسب های سالم بیش از پیش آشکار می گردد. Rebhun برای درمان اولیه عفونت های سطح چشم اسب ها، قبل

## تشکر و قدردانی

بدین ترتیب از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه به خاطر تامین منابع مالی تحقیق حاضر و همکاران بخش میکروبیولوژی بخصوص آقای مهندس دلشاد تشکر و قدردانی می گردد.



## The effect of season on aerobic bacterial flora of conjunctiva in the healthy horses

Araghi-Sooreh, A.<sup>\*1</sup>, Nadalian, M.Gh.<sup>2</sup>, Mokhber-Dezfuli, M.R.<sup>2</sup>.

Received: 04.02.2012

Accepted: 22.12.2012

### Abstract

The objectives of this study were to identify the aerobic bacterial flora of conjunctival sac in healthy horses and to determine the seasonal variations of these flora as well as antibiotic susceptibility of the isolates. Forty-two swabs were taken from the inferior conjunctival sac of 21 normal horses (10 stallions and 11 mares), in October, January, April, and July. The samples were inoculated on blood agar and MacConkey agar, and examined for aerobic bacteria. A total of 10 different bacterial species (3 Gram-positive, 7 Gram-negative) were recovered. Gram-positive aerobes were most commonly cultured (59.04% of all isolates). The first five predominant organisms were *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella oxytoca*, beta-hemolytic streptococci and *Escherichia coli*. According to the statistical analysis, the isolation frequency of *B. cereus* in spring, *E. coli* in summer and *S. epidermidis* in autumn were significantly more than the other seasons ( $p < 0.05$ ). In winter, there was no significant difference between the frequency of the isolates ( $p > 0.05$ ). In the stallions, the isolation frequency of *K. oxytoca* in spring was significantly higher than the other isolates and in the mares, the frequency of *S. epidermidis* was significantly higher in summer ( $p < 0.05$ ). On the basis of susceptibility testing, ceftiofor and florfenicol were effective on all bacterial species examined. Gentamicin was effective on all Gram-negative aerobes. The isolated bacterial species were comparable with the studies performed in horses of other countries.

**Keywords:** Bacterial Flora, Conjunctiva, Horse, Season.

1. Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Urmia branch, Urmia-Iran.

2. Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

\*Corresponding author: [a.araghi@iaurmia.ac.ir](mailto:a.araghi@iaurmia.ac.ir)

- عراقی سوره، ع؛ محمدامین زاده، آ. ۱۳۸۹. گیای باکتریایی کیسه ملتحمه گوسفندان نژاد ماکویی و قزل سالم در شهرستان ارومیه. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز ۴ (۲)، ۸۵۵ - ۸۶۰.
- ناصری، ا. ۱۳۹۰. مطالعه فلور باکتریایی کیسه ملتحمه الاغ های سالم در شهرستان ارومیه. پایان نامه دکتری عمومی دامپزشکی. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، ارومیه، ایران
- Andrew, S.E., Nguyen, A., Jones, G.L., Brooks, D.E. 2003. Seasonal effects on the aerobic bacterial and fungal conjunctival flora of normal thoroughbred brood mares in Florida. *Veterinary Ophthalmology*, **6**, 45-50.
- Araghi-Sooreh, A., Hatami-Lorzini, K. 2012. Aerobic bacterial flora of conjunctival sac in the healthy Iranian water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Current Research Journal of Biological Sciences*, **4**, 608-612.
- Araghi-Sooreh, A., Hassanpour, A., Fathollahi, S. 2013. Bacterial flora of normal conjunctiva of native goats in Northwestern Iran. *Global Veterinaria*, **10**, 9-12.
- Brooks, D. E., Andrew, S. E., Biros, D. J., Denis, H. M., Cutler, T. J., Strubbe, D. T., Gelatt, K. N. 2000. Ulcerative keratitis caused by beta-hemolytic *Streptococcus equi* in 11 horses. *Veterinary Ophthalmology*, **3**, 121-125.
- Burns, R. 1969. *Pseudomonas aeruginosa* keratitis: Mixed infections of the eye. *American Journal of Ophthalmology*. **67**, 257-262.
- Cann, C. 1995. *Essential of veterinary microbiology*, 5th ed. Willam & Wilkins Company. Baltimor, US A. 1-276.
- Cooper, S.C., McLellan, G. J., Rycroft, A.N. 2001. Conjunctival flora observed in 70 healthy domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Veterinary Record*, **149**, 232-235.
- Davidson, H. J., Rogers, D. P., Yeary, T.J, Stone, G. G., Schoneweis, D. A., Chengappa, M. M. 1994. Conjunctival microbial flora of clinically normal pigs. *American Journal of Veterinary Research*. **55**, 949-951.
- Davidson, H. J., Vestweber, J. G., Brightman, A.H., Van Slyke, T. H., Cox, L.K., Chengappa, M. M. 1999. Ophthalmic examination and conjunctival bacteriologic culture results from a herd of North America bison. *Journal of American Veterinary Medical Association*. **215**, 1142-1144.
- Dupont, C., Carrier, M., Higgins, R. 1994, Bacterial and fungal flora in healthy eyes of birds of prey. *Canadian Veterinary Journal*. **35**, 699-671.
- Eichenbaum, J.D., Lavach, J.D., Severin, G.A., Paulsen, M.E. 1987, Immunology of the ocular surface. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, **9**, 1101-1109.
- Espinola, M.B, Lilenbaum, W. 1996. Prevalence of bacteria in the conjunctival sac and on the eyelid margin of clinically normal cats. *Journal of Small Animal Practice*. **37**, 364-366.
- Fahmi, L.S., Hegazy, A.A., Abdelhamid, M.A., Hatem, M.E., Shamaa, A.A. 2003. Studies on eye affections among camels in Egypt: Clinical and bacteriological studies. *Scientific Journal of King Faisal University*, **4**, 159-176.

- Gelatt**, K.N. 1974, *Pseudomonas* ulcerative keratitis and abscess in a horse. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*. **69**, 1309-1310.
- Gilger**, B.C. 2005. *Equine ophthalmology*. Elsevier Saunders Company. Philadelphia, USA. 159-161.
- Gionfriddo**, J.R., Rosenbusch, R., Kinyon, J.M., Betts, D.M., Smith, T.M. 1991. Bacterial and mycoplasma flora of the healthy camelid conjunctival sac. *American Journal of Veterinary Research*. **52**, 1061-1064.
- Johns**, I.C., Baxter, K., Booler, H., Hicks, C., Menzies-Gow, N. 2011. Conjunctival bacterial and fungal flora in healthy horses in the UK. *Veterinary Ophthalmology*. **14**, 195–199.
- Kojouri**, G. A., Ebrahimi, A., Nikookhah, F. 2007. Systemic dexamethasone and its effects on normal aerobic bacterial flora of cow. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. **10**, 2095-2097.
- McLaughlin**, S.A., Brightman, A.H., Helper, L.C., Manning, J.P., Tomes, J.E. 1983. Pathogenic bacteria and fungi associated with extra ocular disease in the horse. *Journal of American Veterinary Medical Association*, **182**, 241-242.
- Moore**, C.P., Collins, B.K., Fales, W.H. 1995. Antibacterial susceptibility patterns for microbial isolates associated with infectious keratitis in horses: 63 cases (1986-1994). *Journal of American Veterinary Medical Association*, **207**, 928-33.
- Moore**, C.P. 1984. *Veterinary clinics of North America: large animal practice*. WB. Saunders Company, Philadelphia, USA. 451-456.
- Moore**, C.P., Fales, W.H., Whittington, P., Bauer, L. 1983. Bacterial and fungal isolates from equidae with ulcerative keratitis. *Journal of American Veterinary Medical Association*, **182**, 600-603.
- Moore**, C.P., Heller, N., Majors, L. J., Whitley, D., Burgess, E. C., Weber, J. 1988. Prevalence of ocular microorganisms in hospitalized and stabled horses. *American Journal of Veterinary Research*, **49**, 773-777.
- Nasise**, M.P., Nelms, S. 1992. Equine ulcerative keratitis. *Veterinary Clinics of North American Equine Practice*, **8**, 537-555.
- Okuda**, H., Campbell, L. H. 1974. Conjunctival bacterial flora of the clinically normal New Zealand white rabbit. *Laboratory Animal Sciences*, **24**, 831-833.
- Pinard**, C.L., Brightman, A.H., Yearly, T.J., Everson, T.D., Cox, L.K., Chengappa, M.M. , Davidson, H.J. 2002. Normal Conjunctival Flora in the North American Opossum (*Didelphis virginiana*) and Raccoon (*Procyon lotor*). *Journal of Wildlife Diseases*, **38**, 851–855.
- Peterson-Jones**, S.M. 1997. Quantification of conjunctival sac bacteria in normal dogs and those suffering from keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary and Comperative Ophthalmology*. **7**, 29-35.
- Prado**, M.R., Rocha, M.F.G., Brito, E.H.S., Girao, M.D., Monteiro, A.J., Teixeira, M.F.S., Sidrim, J.J.C. 2005. Survey of bacterial microorganisms in the conjunctival sac of clinically normal dogs and dogs with ulcerative keratitis in Fortaleza, Ceara, Brazil. *Veterinary Ophthalmology*, **8**, 33–37.
- Quinn**, P.Y., Carter, M.E., Markey, B., Carter, G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolf. London, UK.
- Rebhun**, W.C. 1981. Bacterial ulcers of the equine cornea. *Equine practice*, **3**, 40-49.
- Sauer**, P., Andrew, S.E., Lassaline, M., Gelatt, K.N., Denis, H.M. 2003. Changes in antibiotic resistance in equine bacterial ulcerative keratitis (1991-2000): 65horses. *Veterinary Ophthalmology*, **6**, 309-313.



**Sgorbini, M., Barsotti, G., Nardoni, S., Mancianti, F., Rossi, S., Corazza, M.** 2008. Fungal Flora of Normal Eyes in Healthy Newborn Foals Living in the Same Stud Farm in Italy. *Journal of Equine Veterinary Sciences*, **28**, 540-543.

**Shewen, P.E., Povey, R.C., Wilson, M.R.** 1980. A survey of the conjunctival flora of clinically normal cats and cats with conjunctivitis. *Canadian Veterinary Journal*, **21**, 231-233.

**Spinelli, T.P., Oliveira-Filho, E.F., Silva, D., Mota, R., Sa, F.B.** 2010. Normal aerobic bacterial conjunctival flora in the Crab-eating raccoon (*Procyon cancrivorus*) and Coati (*Nasua nasua*) housed in captivity in pernambuco and paraiba (Northeast, Brazil). *Veterinary Ophthalmology*, **13**, 134-136.

**Tantivanich, P., Soontornvipart, K., Tuntivanich, N., Wongaammuaykul, S. Brikawan, P.** 2002. Conjunctival microflora in clinically normal Asian elephants in Thailand. *Veterinary Research Communication*, **26**, 251-254.

**Vidal, G.H., Romero, R.R., Tovar, L.E.R., Valdez, F.A.M., Contreras, J.A.V.** 2010. Localization of *Serratia marcescens* in bacterial and fungal profile of conjunctiva of clinically healthy horses from Monterrey, Nuevo Leon, Mexico. *Veterinary Mexico*, **41**, 239-249.

**Whitley, R.D., Burgess, E.C., Moore, C.P.** 1983. Microbial isolates of the normal equine eye. *Equine Veterinary Journal*, (**Suppl 2**), 138-140.

**Wada, S., Hobo, S., Niwa, H.** 2010. Ulcerative keratitis in thoroughbred racehorses in Japan from 1997 to 2008. *Veterinary Ophthalmology*, **13**, 99-105.

