СЪСТАВ И АНТИМИКРОБНИ ОТНАСЯНИЯ НА БАКТЕРИАЛНИ ВИДОВЕ, ИЗОЛИРАНИ ОТ УСЛОЖНЕНИ ФОРМИ НА ЗАРАЗНА ЕКТИМА ПРИ ОВЦЕ И КОЗИ

МИХНИ ЛЮЦКАНОВ, ЛЮДМИЛ ИВАНОВ*, ВАЛЕНТИНА УРУМОВА
Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет - Стара Загора
*Районен ветеринарномедицински институт - Стара Загора

Контагиозната ектима (КЕ) е заразно вирусно заболяване главно по овцете и козите, но се среща и при някои други домашни и диви преживни животни. Тя е зооноза и има нарастващо значение за общественото здраве. Болестта е известна отдавна, но често е била смесвана с некробацилозата и шарката. Понастоящем е широко е разпространена в много части на света и е позната под различни имена: контагиозен пустуларен дерматит, контагиозен пустуларен стоматит, Орф, грапава уста, улцерозен стоматит, инфекциозен лабиален дерматит, Boquera.

Ектимата се причинява от вирус, спадащ към семейството на поксвирусите, а заболяването се характеризира с поява и развитие на брадавицоподобни изриви и лезии по кожно-лигавичните краища на устата, венците, вимето, гениталната област и по-рядко по краката и корема. При бозаещите агнета и ярета протича като тежък улцеративен стоматит.

Заболеваемостта достига до 100%, но смъртността е ниска – около 5%. Тя обаче може да достигне и 20% в случаите на проявление на усложнени форми. Последните касаят най-често лезии по лицевата част на главата и особено в устната кухина. Етиологично най-често те имат бактериален и/или гъбичен произход. Тяхното установяване е предпоставка за навременна етиотропна терапия.

Целта на настоящото проучване беше да се установят най-честите причинители на усложнените форми на контагиозната ектима съответно при овцете и козите. На изолатите от бактериален произход като важна задача следваше да се анализират отнасянията към употребяваните в клиничната ветеринарна практика у нас антимикробни средства. Резултатите от тези изследвания биха били предпоставка за рационализиране на схемите за терапия на усложнените форми с включване в тях на етиотропен компонент.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Проучванията бяха проведени в периода 2009 – 2011 г. Проследени бяха прояви на болестта в 7 стада от овци, 3 стада от кози и 4 смесени стада.

Бактериологично бяха изследвани проби от 71 животни в т. ч 18 възрастни овце, 15 кози, 22 бозаещи агнета и 16 ярета-сукалчета. Във всички случаи ставаше дума за тежко изявена клинична проява с влошаване на общото състояние и комплициран характер на локалните прояви.

Пробите от лезиите в устната кухина бяха вземани със стерилни сухи тампони, а тези от кожните образувания вземахме със стерилен скалпел или кюрета в стерилни контейнери с физиологичен разтвор.

Бактериологичните изследвания включваха посевки върху триптиказа-соев бульон, тиогликолатна среда (Fluid Thioglycolate Medium – Merck),

кръвен агар (база БУЛБИО – НЦЗПБ) с 8% дефибринирана овнешка кръв, агар на McConkey (Merck), GSP Agar (Pseudomonas-Aeromonas Selective Agar Base) и Sabouraud-2% Dextrose Agar(Merck).

Идентификацията на изолатите се извършваше чрез полуавтоматизираната система CRYSTAL на Becton Dickinson при използване на следните стрипове : Crystal Enteric, Crystal Nonfermenter, Crystal Gram-positive, Crystal Streptocard Acid Kit.

За определяне чувствителността към антимикробни средства на изолираните аеробни и факултативно анаеробни изолати беше използван диск-дифузионният метод с интерпретиране по тристепенната система на Bauer-Kirby, съгласно изискванията на Clinical Laboratory Standart Institute - Perfomance Standarts for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals –Approved Standarts- M-31-A3, Vol. №8, Replaced №31-A2, Vol. 22, №6

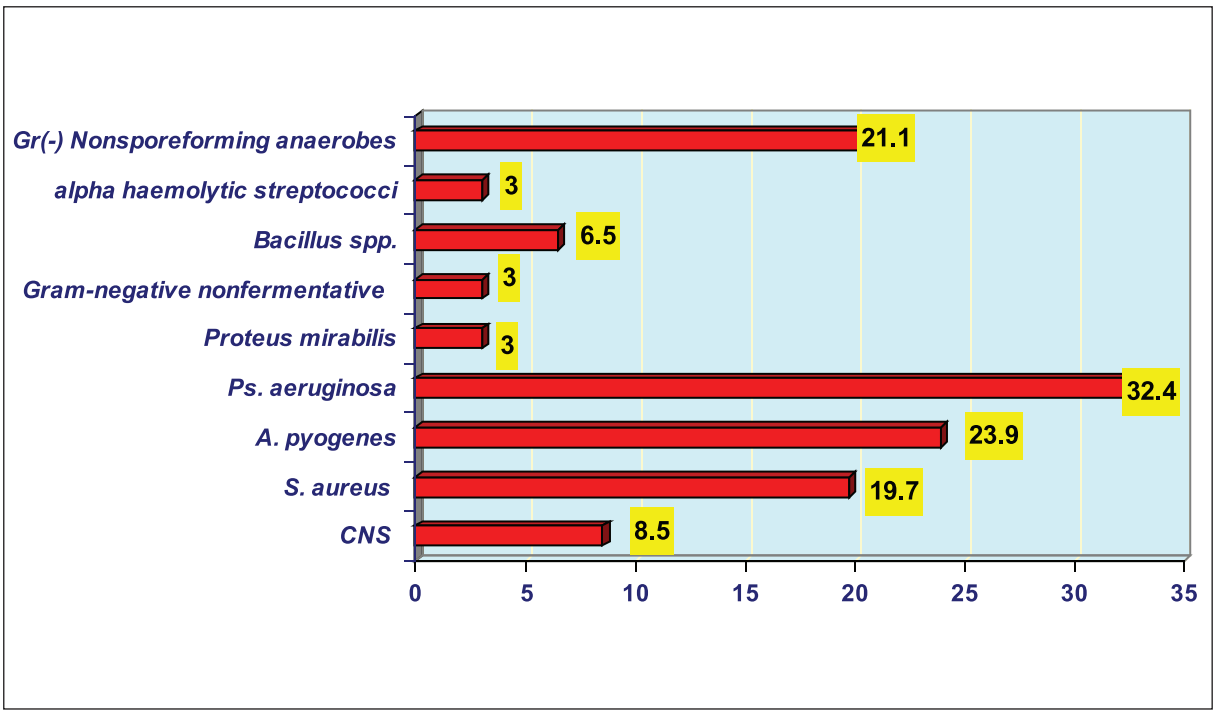
Антибиограмите се извършваха върху агара на Мюлер-Хинтон (НЦЗПБ, София). Използвани бяха дискове към 11 антимикробни средства, подбрани по критерия – най – често използвани в практиката, с концентрации на химиотерапевтичното средство, посочени в табл.1

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Видовият състав на изолираната от усложнени форми на етима при овце и кози патогенна микрофлора като оообщени стойности за всички възрастови категории е отразен на фиг.1. Видно е, че са установени микробни разновидности, принадлежащи към 9 таксономични категории. Най-често доказвания вид е *Pseudomonas aeruginosa*, установен в близо

Таблица 1. **Използвани антибактериални дискове**

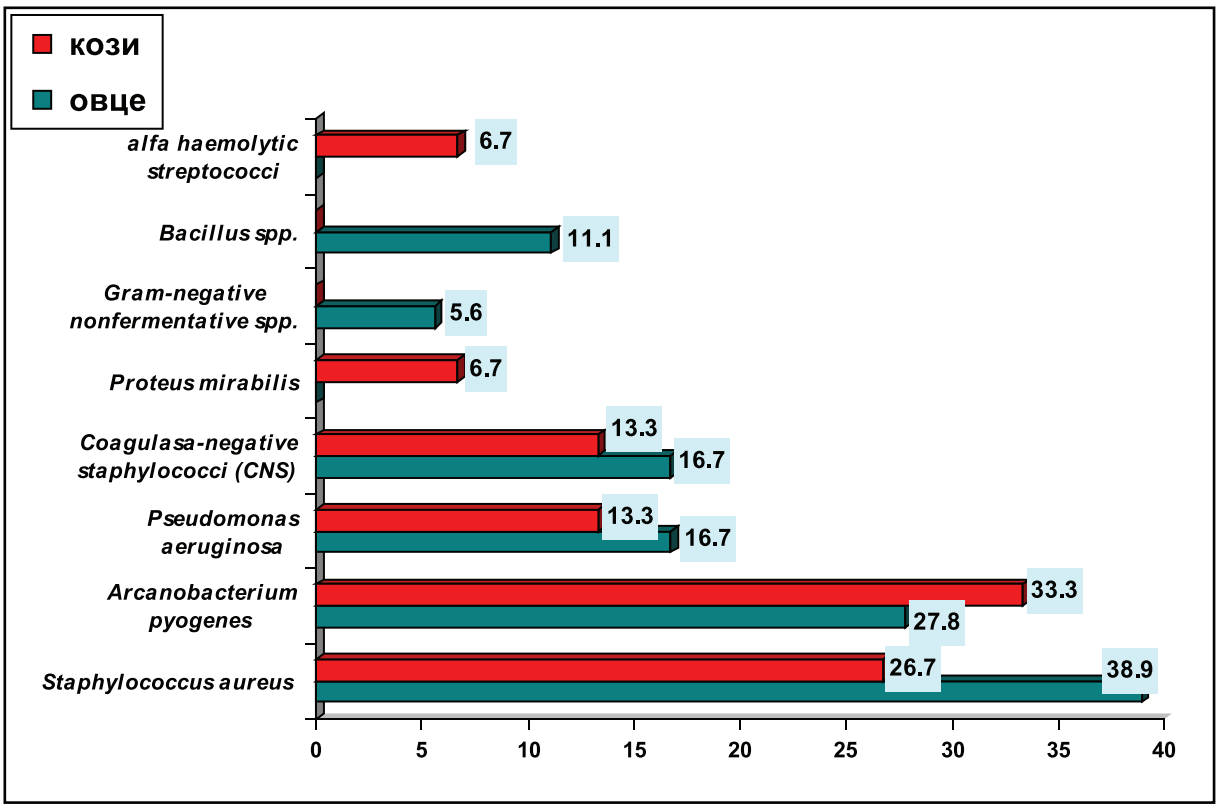
Антимикробен диск с:	Код	mg/диск	Производител
Amoxicillin	Amx		
Cefquonom	CQ		
Ceftiofur	Cf		
Gentamicin	G	10	НЦЗПБ
Tulathromycin	Trm		
Spectinomycin	Sp	30	CEVA
Tiamphenicol	Tm	30	НЦЗПБ
Oxytetracyclin	OTC	50	CEVA
Enrofloxacin	Enr	5	Bayer
Levofloxacin	Lev	5	
Sulpfonamides/Trimetoprim	Su/Tm	5	Hipra



Фиг. 1 Видов състав на установената патогенна микрофлора

Таблица 2. **Микробни видове, изолирани от кожни лезии на възрастни овце и кози с усложнени форми на контагиозна ектима**

	Микробна разновидност	Овце			Кози		
		Брой проби	Брой изолати	%	Брой проби	Брой изолати	%
1	*Staphylococcus aureus*	18	7	38.9	15	4	26.7
2	*Arcanobacterium pyogenes*	18	5	27.8	15	5	33.3
3	*Pseudomonas aeruginosa*	18	3	16.7	15	2	13.3
4	*Coagulasa-negative staphylococci*	18	3	16.7	15	3	13.3
5	*Proteus mirabilis*	18	0	0	15	1	6.7
6	Gram-negative nonfermentative spp.	18	1	5.6	15	0	0
7	*Bacillus spp.*	18	2	11,1	15	0	0
8	*α-haemolytic streptococci*	18	0	0	15	1	6.7



Фиг. 2 Разпределение на изолати от кожни лезии

1/3 от случаите- 32.4%.

Втори по честота на изолиране е видът *Arcanobacterium pyogenes*, който се свързва обикновено с гнойно-възпалителни процеси. Той се установи в 23.9% от случаите на усложнена orf инфекция. С такава приблизително честота (21.1%) се доказваха и неспорообразуващите Грам-негативни анаеробни видове – бактериоиди и фузобактерии. Видът *S. aureus* се доказа в 19.7% от пробите, а заедно с коагулаза-негативните видове (8.5%) делът на стафилококите достига до 28.2%.

Останалите разновидности включват представители на р. *Bacillus* (6.5%), β-хемолитични стрептококи (3%), и също и неферментативни Грам-негативни аероби- пак 3%. Единствените установени представители на ентеробактериите бяха от р. *Proteus,* които също се установиха едва в 3% от случаите.

Разпределението на изолатите от кожни лезии при възрастните овце и кози е представено в табл. 2 и илюстрирано на фиг. 2. Видно е, че при овцете най-често се доказва наличие на *S. aureus* (38.9%), докато при козите най-голяма е честотата на изолиране на вида *A. pyogenes* (33.3%). Освен тези две разновидности и при двата вида животни се установиха още *P. aeruginosa* и коагулаза-негативни стафилококи.

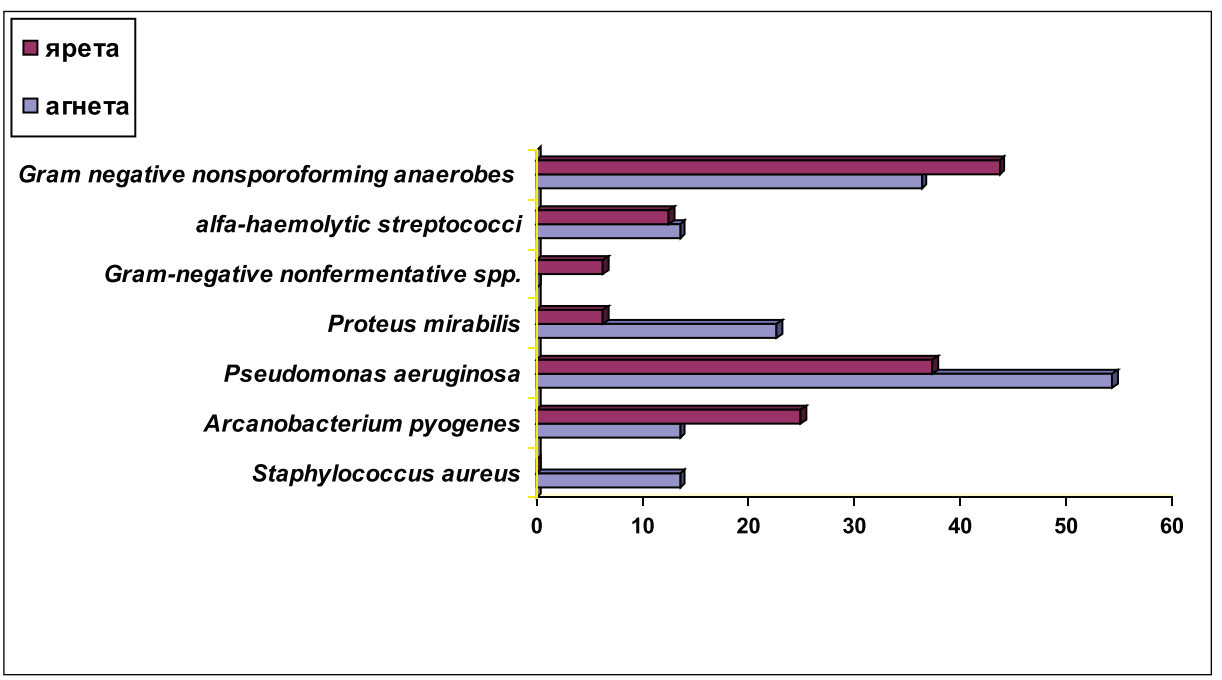
Само в проби от овце, но не и при кози се изолираха *Bacillus* spp. и Грам-негативни неферментативни бактерии, а само в проби от кози беше установено присъствие на *Proteus mirabilis* и алфа-хемолитични стрептококи.

При бозаещите агнета и ярета бяха изолирани общо 7 микробни разновидности. Техният видов състав и процентно разпределение са отразени в табл. 3.

Най-често и от агнетата и от яретата с усложнена стоматитна форма на ектима се доказва вида *P. aeruginosa* – при първите в 54.5% от изследваните проби, а при яретата – в 37.5%. При агнетата на второ място

Таблица 3. **Микробни видове, изолирани от лезии на бозаещи агнета и ярета с усложнени форми на контагиозна ектима**

	Микробна разновидност	Агнета			Ярета		
		Брой проби	Брой изолати	%	Брой проби	Брой изолати	%
1	*Staphylococcus aureus*	22	3	13.6	16	0	0
2	*Arcanobacterium pyogenes*	22	3	13.6	16	4	25.0
3	*Pseudomonas aeruginosa*	22	12	54.5	16	6	37.5
4	*Proteus mirabilis*	22	5	22.7	16	1	6.3
5	Gram-negative nonfermentative spp.	22	0	0	16	1	6.3
6	*α-haemolytic streptococci*	22	3	13.6	16	2	12.5
7	*Gram negative nonsporoforming anaerobes*	22	8	36.4	16	7	43.8



Фиг. 3

по честота на изолиране (36.4%) се установи наличие на Грам-негативни неспорообразуващи анеаероби (бактериоиди и фузобактерии), докато при яретата те бяха установени само в 18.8% от пробите. На второ място по честота на изолиране при яретата се установи видът *A. pyogenes*. За разлика от кожните лезии при възрастните животни при сукалчетата се установи по-рядко наличие на *S. aureus* (13.6%), а коагулаза-негативни представители този род изобщо не бяха изолирани. Участието на алфахемолитични стрептококи се установи в 13.6% от пробите, получени от агнета и в 12.5% в пробите от яретата.

Както при възрастните овце, така и при бозаещите ярета в единични проби се установи присъствие на Грам-негативни неферментативни бактерии.

Резултатите от изпитване на отнасянията към антимикробни средства на трите най-често срещани бактерийни разновидности при усложнените форми на контагиозна ектима са представени в табл. 4. Данните в нея сочат, че всички изолати от вида *S. aureus* показват чувствителност към цефалоспориновите антибиотици цефквином и цефтиофур, а също и към флуорирания хинолоно левофлоксацин. Много голям процент от щамовете бяха сензитивни и към макролидния антибиотик тулатромицин (92.9%), към тиамфеникол и амоксицилин (78.6%), а също и към енрофлоксацин (71.4%). Най-често при тях се регистрираше резистентност към потенцирани сулфонамиди и окситетрациклин.

При изолатите *A. pyogenes* високи нива на съхранена сензитивност се установиха спрямо двата изпитани цефалоспорина и двата флуорирани хинолона, а също и към тулатромицин – 88.2%. Делът на изолатите, чувствителни към амоксицилин, беше 70.6%, а близо половината от изолираните щамове от този вид показваха устойчивост или имаха интермедиерно отнасяне спрямо гентамицин, спектиномицин и триметоприм/ сулфонамид.

За щамовете от вида *P. aeruginosa* се установи обичайно висока резистентност (R+I) спрямо сулфонамид/триметоприм, тулатромицин, амоксицилин, цефтиофур и цефквином, а също и към окситетрациклин и спектиномицин. Междинно положение заемат изолатите, чувствителни към тиамфеникол – 39.1%. Най-висока чувствителност се установи за флуорираните хинолони левофлоксацин (82.6%) и енрофлоксацин (73.9%), също и за гентамицина –73.9%.

Установените при проучването резултати сочат наличие на разновидови микробни изолати при усложнените форми на ектимата. Те обаче имат относително еднакъв състав при овцете и при козите. Различия в този състав се констатират по - скоро при различните места на локализация на лезиите със секундерни усложнения, които касаят животни на различна възраст. Така при възрастните овце и кози, при които доминират лезиите по кожата на лицето, вимето и около външните гениталии най-често усложненията са свързани със стафилококи и *A. pyogenes* За тежки прояви на orf-инфекция, свързани с *A. pyogenes* при кози съобщават още **Zamri-Saad** (1993) при експериментални проучвания в Малайзия. Наличие на коагулаза-позитивните *S. aureus* при кожни лезии при кози установяват и **Coates and Hoff** (1990), а стафилококи и *Proteus mirabilis* най-често установяват в млякото **Hausawi F. Met al.** (2008) след експериментална orf инфекция на млечната жлеза при лактиращи кози.

При младите животни, и особено при бозаещите агнета и ярета, доминира стоматитната форма на проявление. Резултатите от нашето проучване показват, че при нея с водеща честота се установява вторичното участие на неспорообразуващи Грам-негативни анаероби (фузобактерии и/или бактериоиди) и особено често *Pseudomonas aeruginosa*. За често вторично присъствие на *F. necrophorum* при такива усложнения и едновременно протичане на orf инфекция и некробактериоза съобщават и **Nandi et al.,** (2011) като подчертават неговото значение при оралната и венерална форма на инфекцията.

Подобни на нашите резултати са доказани-

Таблица 4. ***In vitro*** **отнасяния към антимикробни средства на 3 бактериални разновидности, изолирани при усложнени форми на контагиозна ектима при овце и кози**

Антимикробно средство	*Staphylococcus aureus* *n=14*						*Arcanobacterium pyogenes* *n*=17						*Pseudomonas aeruginosa* *n*=23					
	S		I		R		S		I		R		S		I		R	
	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%	Бр.	%
Amoxicillin	11	78.6	1	7.1	2	14.3	12	70.6	2	11.8	3	17.6	11	47.8	4	17.4	8	34.8
Cefquonom	14	100.0	0	0	0	0	15	88.2	0	0	2	1.8	13	56.5	5	21.7	5	21.7
Ceftiofur	14	100.0	0	0	0	0	15	88.2	1	5.9	1	5.9	13	56.5	5	21.7	5	21.7
Gentamicin	9	64.3	1	7.1	4	28.6	10	58.8	2	11.8	5	29.4	17	73.9	2	8.9	4	17.4
Tulathromycin	13	92.9	1	7.1	0	0	15	88.2	2	11.8	0	0	4	17.4	3	13.0	16	69.6
Spectinomycin	6	42.9	2	14.3	6	42.9	8	47.1	4	23.5	5	29.4	3	13.0	8	34.8	12	52.2
Tiamphenicol	11	78.6	1	7.1	2	14.3	11	64.7	2	11.8	4	23.5	9	39.1	6	26.1	8	34.8
Oxytetracyclin	8	57.1	2	14.3	4	28.6	9	52.9	2	11.8	6	35.3	5	21.7	6	26.1	12	52.2
Enrofloxacin	10	71.4	1	7.1	3	21.4	14	82.3	0	0	3	17.6	17	73.9	2	8.9	4	17.4
Levofloxacin	14	100..0	0	0	0	0	15	88.2	1	5.9	0	0	19	82.6	0	0	4	17.4
Sulpfonamides/ Trimetoprim	7	50.0	3	21.4	4	28.6	9	52.9	2	11.8	6	35.3	0	0	8	34.8	15	65.2

те микробни видове при изследванията на **A. de la Concha-Bermejillo et al.** (2003), но те съобщават още за *Prevotella melaninogenica* открита в кожни лазии, а също *Mannheimia haemolytica* , изолирана от белодробни лезии при тежко боледуващи ярета с пневмония.

Бактериалните усложнения резултират с удължаване на оздравителния период, а нерядко и водят до смърт като леталитетът може да достигне до 15%. До такива изводи стигат **Gumbrell and McGrecor** (1997) и **A. de la Concha-Bermejilloet al.** (2003). Ето защо тяхното овладяване е от първостепенно значение. За неговото постигане е необходимо терапевтичният подход да се основава на данни за антимикробните отнасяния на доминиращите бактерийни изолати. Нашите проучвания показват една относително съхранена сензитивност на преобладаващите микробни видове към основните класове антимикробни средства. Така всички, или почти всички изолати *S.aureus* са чувствителни към новите генерации цефалоспорини (цефтиофур, цефквином), на макролидния антибиотик тулатромицин от ново поколение ,а също и на флуорираните хинолони. Това важи в голяма степен и за изолатите *A. pyogenes*. Препаратите на тяхна основа, предназначени както за външно приложение, така и за системно въвеждане биха могли да се въвеждат в терапевтичните схеми дори при емпиричен подход на лечението. Това не може да се каже за гентамицина и спектиномицина, а също и за тетрациклиновите антибиотици, които показват разностранни отнасяния и следва да се прилагат само след *in vitro* тестиране.

Изолатите *P. aeruginosa* показват характерната за този вид мултирезистентност, което налага подборът на средствата за терапевтично повлияване на свързаните с тях усложнени форми всеки път да е съобразен с резултатите от изготвена антибиограма.

Във всички случаи познаването на видовия състав на бактериите, причиняващи усложнения и изпитването на техните отнасяния към антимикробни средства засилва гаранциите за по-успешен контрол на това тежко заболяване.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Abu, E. E., F. M. Hausawi,** 1997. Severe long-lasting contagious ecthyma infection in goat's kid. Zentralbl. Veterinarmed.Reihe, B.44, 561-564.

2. **Coates, J. W., S. Hoff,** 1990. Contagious ecthyma: An usual distribution of lesions in goats. Can.. Vet. J. , 31, 209-210.

3. **A. de la Concha-Bermejillo, A., Guo, J., Zhang, Z., and Waldron D.,** 2003, September. Severe persistent orf in young goats. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 15 (5), 423-31

4. **Gumbrell, R. C. and D. A. McGrecor,** 1997. Outbreak of severe fatal orf in lambs. Vet. Record, 141, 150-151.

5. **Haig D. M. and A. A. Mercer,** 1998, Orf. Vet. Res., 29 pp. 311–326. | View Record in Scopus | | Cited By in Scopus (84)

6. **Hausawi F. M., E. T. A. Elzein, A. M. Al-Naeem, A. Camel, A. Q. Homaida**, 2008. Induced udder orf infection in sheep and goats. Vet. Archive,78, 217-225.

7. **Merck Veterinary Manual,** 2006. Contagious ecthyma (orf, contagious pustular dermatitis, sore mouth). Whitehouse Station, NJ: Merck & Co., Inc

8. **McKeever, D. J., H. W. Reid,** 1987. The response of the supramammary lymph nodes of sheep to secondary infection with orf virus. Vet. Microbiol., 14, 3-13.

9. **Nandi S., K. Ujjwal. De1, Sumit Chowdhury,** 2011.Current status of contagious ecthyma or orf disease in goat and sheep—A global perspective Small Ruminant Research, Vol. 96, Issues 2-3, Pages 73-82.

10. **Robinson and Balassu,** A.J. Robinson and T.C. Balassu, Contagious pustular dermatitis (orf). Vet. Bull., 51 , pp. 771–782.

11. **Robinson, A. J. and P. J. Kerr,** 2001. Poxvirus infections. Pp. 179-201 in E. S. Williams and I. K. Barker (eds.), Infectious Diseases of Wild Mammals. 3rd Ed. Iowa State University Press, Ames, IA.

12. **Zamri-Saad M., K. S. al-Ajeeli, K. S. , A. L. Ibrahim,** 1992. A severe outbreak of orf involving the buccal cavity of goats. Trop Anim Health Prod, 24, 177-178.

13. **Zamri-Saad, M., Roshidah I, al-Ajeeli KS, Ismail MS, Kamarzaman.,** 1993. Severe complications induced by experimental bacterial superinfection of orf lesions. Trop Anim Health Prod. 1993 May; 25(2):85-8.

FRAMEWORK AND ANTIMICROBIAL SENSITIVITY OF BACTERIAL SPECIES ISOLATED FROM COMPLICATED FORMS OF CONTAGIOUS ECTHYMA IN SHEEP AND GOATS

M. Lyutskanov, L. Ivanov, V. Urumova*
Thrakia University, Veterinary Faculty - Stara Zagora
**Regional Veterinary Institute - Stara Zagora*

SUMMARY

The composition of secondary bacterial microflora in complicated clinical forms of contagious ecthyma was investigated in sheep and goats. Nine microbial species were incriminated as potential causative agents of complications. *Ps. aeruginosa* predominated in complicated stomatitis, related to orf viral infection. This was mostly valid for newborn lambs and goat kids. Frequently, non-sporeforming anaerobes and streptococci were identified.

In adult sheep and goats, lesions in the region of the head were most commonly encountered and the major part of complications resulted from secondary infection with *S. aureus* and *Arcanobacterium pyogenes*.

There were no significant differences in the incidence and the composition of microbial species isolated from sheep and lambs and from goats and kids, respectively.

A significant part of *Ps. aeruginosa* isolates exhibited multiresistance and were sensitive to gentamicin and fluoroquinolones.

S. aureus and *Arcanobacterium pyogenes* isolates were with relatively preserved sensitivity to betalactams and macrolides, but some of the strains were resistant to tetracyclines, enrofloxacin and trimethoprim-potentiated sulfonamides.

Key words: *contagious ecthyma, prevalence, secondary infection, resistance*