PASTEURELLA MULTOCIDA SUBSP. MULTOCIDA IZOLOVANA IZ HRONIČNIH PERIAPIKALNIH INFLAMATORNIH LEZIJA

PASTEURELLA MULTOCIDA SUBSP. MULTOCIDA
ISOLATED FROM CHRONIC PERIAPICAL INFLAMMATORY LESIONS

Ljiljana Suvajdžić, Ljubiša Džambas*, Marija Bokor-Bratić**

Sažetak. U radu je prikazano pet izolata *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* izolovanih iz hroničnih periapikalnih inflamatornih lezija. Opisan je način uzimanja materijala, kao i bakteriološka obrada uzorka.

Na osnovu karakterističnih kulturelnih i tinktorijelnih osobina, kao i činjenice da su svi sojevi proizvodili indol, vršili dekarboksilaciju ornitina, fermentisali glukozu, saharozu i manitol, a nijedan ispitivani izolat nije proizvodio ureazu, niti fermentisao laktozu i maltozu, prepoznata je *Pasteurella multocida*. Subspecies *multocida* određena je činjenicom da su svi ispitani izolati fermentisali trehalozu, ksilozu i sorbitol.

Ni jedan od pacijenata nije bio u kontaktu sa životinjama sa farmi, niti kućnim ljubimcima, što ukazuje na mogućnost aerosolnog prenosa, kako sa životinje na čoveka, tako i sa čoveka na čoveka. Stomatolozi i oralni hirurzi bi ovom mikroorganizmu trebalo da posvete više pažnje, a isto tako i mikrobiolozi.

Ključne riječi: *Pasteurella multocida* subsp. *multocida*, Hronična periapikalna inflamatorna lezija

Uvod

Pasteurella multocida dobro je poznati patogen životinja [1], dok je kod ljudi retko izolovan mikroorganizam nedovoljno razjašnjenog kliničkog značaja. Spominju se izolacije iz respiratornog trakta, kože, rana i opekotina [2]. U novije vreme navodi se da mikroorganizam može izazvati vrlo ozbiljne bolesti, kao što su endokarditis [3], apsces pluća [4], meningitis [5] i septikemije posle ujeda životinje [6]. Obično se oboljevanje ljudi javlja nakon kontakta sa životinjama sa farmi [2,6] ili kućnim ljubimcima [7], budući da su *Pasteurella* vrste često normalni stanovnici usne duplje domaćih i divljih životinja, kao i kućnih ljubimaca. Mikroorganizam je moguće preneti sa životinje na

čoveka kapljičnim putem bez ujeda ili direktnim kontaktom sa životinjom [8,9].

Materijal i metode

Uzimanje i transport materijala

Sluzokoža usta prebrisana je 0,5% aseptolom i 76% alkoholom. Posle podizanja mukoperiostalnog režnja, čeličnim borerom je trepaniran bukalni korteks kosti vilice i napravljen otvor da bi se moglo pristupiti spoljašnjem zidu granuloma ili ciste. Aspiriran je sadržaj lezije i ubačen u tioglikolatni bujon i dostavljen mikrobiološkoj laboratoriji, gde je obrađen odmah po prispeću.

Mikrobiološka obrada

Deo tioglikolatnog bujona zasejan je na dve agar ploče sa 10% ovčije krvi: jedan hranljivi i jedan McConkey agar. Takođe, materijal je zasejan i na Sabouraud podlogu. Krvni i hranljivi agar zasejani su uporedo sa linijom rasta *Staphylococcus aureus* i bez nje. Po jedna krvna ploča inkubisana je mikroaerofilno, a ostale ploče aerobno na 37°C, metodologijom koju je opisao Kapetanov i sar. [10]. Ostatak tioglikolatnog bujona kultivisan je na 37°C i presejan nakon 48 časova na tri krvne agar ploče. Jedna krvna ploča kultivisana je aerobno, druga mikroaerofilno, a treća anaerobno. Sve primarno inokulisane ploče pregledane su nakon 18 časova inkubacije. Bakterije iz kolonija suspektih na *Pasteurella* bojene su po Gramu i presejavane na McConkey, krvni i hranljivi agar. Sposobnost produkcije citohrom c oksidaze i katalaze testirane su sa hranljivog agara. Urađena je biohemijska serija koja se sastojala od: Kligler agara, tečnog indola, ureje po Christensenu, ornitina, glukoze, laktoze, saharoze, maltoze i manitola, metodologija koju je preporučio Quinn [1]. Diferencijacija na podvrste vršena je na osnovu sposobnosti fermentacije trehaloze, ksiloze, arabinoze, sorbitola i dulcitol. Takođe, urađen je dijagnostički test osetljivosti na penicilin disk.

Rezultati

Nakon 18 sati inkubacije na krvnim agarima, pod aerobnim i mikroaerofilnim uslovima, porasle su vidljive kolonije, koje su u uslovima povećane tenzije CO₂ bile krupnije. Ni na jednoj krvnoj ploči nije se pojavila zavisnost izolata od stafilokoknog rasta. Porast kolonija na hranljivom agaru pokazao je nezavisnost rasta od krvnog faktora rasta.

Kolonije su bile sjajne i ispupčene, rozaste, sivkasto obojene, puteraste konzistencije. Lako su se skidale i dispergovale. Nisu uzrokovale lizu eritrocita. Na hranljivom agaru, kolonije istih osobina porasle su nešto sporije i bile su sitnije od kolonija sa krvnog agara. Na McConkey agaru nije bilo porasta, ni u primokulturi, ni supkulturi, kao ni na Sabouraud podlozi.

Supkulture sa tioglikolata nakon inkubacije od 48 časova, porasle su aerobno i anaerobno, ali najbolje mikroaerofilno. Imale su iste osobine, kao i primoizolati. Od primoizolata i svih supkultura pravljeni su preparati i bojeni po Gramu. Na preparatima bojenim po Gramu, sa kolonije stare 18

časova, ustanovljeni su nežni Gram negativni, kratki štapići i kokobacili, sa jače obojenim polovima. Svi izolati bili su pozitivni u testu produkcije citohrom c oksidaze i katalaze.

Biohemijske osobine

Po dve biohemijske serije pravljene su od svakog bolesničkog materijala. Jedna sa primarno zasejanih ploča, druga sa supkulture posle inkubacije u tioglikolatnom bujonu. Između njih nije bilo biohemijskih razlika. Svi sojevi su produkovali indol, vršili dekarboksilaciju ornitina, fermentisali glukozu, saharozu i manitol. Nijedan ispitivani izolat nije produkovao ureazu, niti fermentisao laktozu i maltozu. Na osnovu navedenih parametara, sojevi su definisani kao *Pasteurella multocida*. Dalja diferencijacija na tri moguće podvrste *Pasteurella multocida* pokazala je da se radi o *Pasteurella multocida subspecies multocida*, jer su svi ispitani izolati fermentisali trehalozu, ksilozu i sorbitol.

Diskusija i zaključci

Svih pet pacijenata kod kojih je izolovan ovaj mikroorganizam imalo je parcijalnu gornjoviličnu postresekcionu zubnu protezu. Takođe, svih pet pacijenata negira prethodni kontakt sa životinjama, uključujući i kućne ljubimce. U domaćoj [11,12] i stranoj literaturi [13,14], *Pasteurella* vrste nisu referisane kao uzročnici ili kao slučajni nalaz u vezi sa hroničnim periapikalnim inflamatornim lezijama. Nalaz *Pasteurella multocida subspecies multocida* iz dve radikularne ciste i tri granuloma predstavlja specifičan rezultat koji do sada nije opisan.

Međutim, nalaz *Pasteurella multocida* u usnoj duplji, sinusima, gornjem i donjem delu respiratornog trakta [2], upućivao je na mogućnost da se i kod ljudi *Pasteurella* mogu izolovati iz ove regije i izazvati bolest, naročito u uslovima smanjene opšte ili specifične otpornosti. U odnosu na kulturelne, tinktorijalne i biohemijske osobine, ovde opisani izolati u potpunosti odgovaraju literaturnim navodima [1,2].

Kako je kod svih pet pacijenata, korisnika parcijalne postresekcione gornjovilične zubne proteze *Pasteurella* izolovana iz patološkog procesa i bila jedini bakterijski izolat, smatra se da je imala i etiološki značaj. Ovom mikroorganizmu bi više pažnje trebalo da posveti i stomatolog (način uzimanja i transporta materijala), i bakteriolog, jer

izgled kolonije i rutinska biohemijska ispitivanja izolata zavode dijagnostičara prema, tzv. "nefermentujućim mikroorganizmima", koji mogu biti u sastavu normalne flore usne duplje ili prema slabije fermentujućim predstavnicima porodice *Enterobacteriaceae*.

Literatura

1. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC, editors. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Oxford: Blackwell Science, 2002.
2. Holmes B, Pickett MJ, Hollis DG. *Pasteurella*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. *Manual of clinical microbiology*. Washington: American Society for Microbiology, 1999: 632-7.
3. Fukumoto Y, Moriyama Y, Iguro Y, Toda R, Taira A. *Pasteurella multocida* endocarditis: report of a case. *Surg Today*. 2002; 32: 513-5.
4. Hazouard E, Ferrandiere M, Brunereau L, et al. Fulminant *Pasteurella multocida* lung abscess in a chronic alcohol abuser: diagnosis using intracavitary lavage. *Intensive Care Med*. 2000; 26: 1404-5.
5. Wade T, Booy R, Teare EL, Kroll S. *Pasteurella multocida* meningitis in infancy - (a lick may be as bad as a bite). *Eur J Pediatr*. 1999; 158: 875-8.
6. Shimizu T, Hasegawa K, Mitsuhashi Y, et al. A case of *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* septicemia due to cat bites in liver cirrhosis patient. *Kansenshogaku Zasshi*. 1995; 69: 1302-6.
7. Arashima Y, Kumasaka K, Okuyama K, et al. The first report of human chronic sinusitis by *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* in Japan. *Kansenshogaku Zasshi*. 1992; 66: 232-5.
8. Arashima Y, Kumasaka K, Okuyama K, et al. Clinicobacteriological study of *Pasteurella multocida* as a zoonosis. Condition of dog and cat carriers of *Pasteurella*, and the influence for human carrier rate by kiss with the pets. *Kansenshogaku Zasshi*. 1992; 66: 221-4.
9. Arashima Y, Kumasaka K, Okuyama K, et al. Clinicobacteriological study of *Pasteurella multocida* infection as a zoonosis. Comparisons of *P. multocida* separated from patients and their pet dogs and cats. *Rinsho Byori*. 1992; 40: 547-51.
10. Kapetanov M, Kapetanov R, Suvajdzic Lj, Velhner M. Prilog poznavanja kolere - pastereloze u roditeljskim jatima. *Živinarstvo*. 2000; 11: 211-3.
11. Popović I, Šćepan V, Zajić B. Flora periapikalnog procesa. *Stomatološki glas Srbije*. 1974; 5: 311-5.
12. Sokolović M. Hronični periapikalni procesi - hirurška terapija - histopatološka i mikrobiološka istraživanja [doktorska disertacija]. Beograd: Stomatološki fakultet, 1975.
13. Grossman LI. Bacteriologic status of periapical tissue in 150 cases of infected pulpless teeth. *J Endod*. 1982; 8: 513-5.
14. Spatafore CM, Griffin JA, Keyes GG, Wearden S, Skidmore AE. Periapical biopsy report: an analysis of over a 10-year period. *J Endod*. 1990; 16: 239-41.

Summary. The work presents five isolates of *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* isolated from chronic periapical inflammatory lesions. There were described the way of sampling the material as well as bacteriological processing of the sample.

On the basis of characteristic cultural and tinctorial features, as well as the fact that all the strains produced indol, performed decarboxylation of ornithin, fermented glucose, saccharose and manitol, and none of examined isolate produced urease or fermented lactose and maltose, it was recognized *Pasteurella multocida*. Subspecies *multocida* was determined by the fact that all examined isolates fermented trehalose, xylose and sorbitol.

None of the patients was in contact with farm animals or domestic pets, which points to the possibility of aerosole transfer, both from an animal to a man or man to man. Dentists and oral surgeon, as well as microbiologists, should pay more attention to this microorganism.

Key words: *Pasteurella multocida* subsp. *multocida*, Chronic periapical inflammatory lesions

Ljiljana Suvajdžić,

Katedra za mikrobiologiju, Farmaceutski odsek, Medicinski fakultet Novi Sad

* Ljubiša Džambas,

Katedra za stomatološku protetiku, Stomatološki odsek, Medicinski fakultet Novi Sad

** Marija Bokor-Bratić,

Katedra za oralnu medicinu sa parodontologijom, Stomatološki odsek, Medicinski fakultet Novi Sad