نشریه تازه ها در میکروب‌شناسی دامپزشکی
وبگاه: nfvm.uoz.ac.ir
دو فصلنامه - شاپا چاپی: ۲۶۴۵-۴۴۹۱ شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۵۰۰۴

دوره ٦، شماره ۲، پائیز و زمستان ۱٤۰۲، صفحات ۸۲- ۷٤

شناسایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی عوامل باکتریایی ایجادکننده ورم پستان بالینی گاو در تبریز

سولماز اسرافیلی[۱]، مهدی قیامی راد[۲*]، سیدامین موسوی آرا[۳]

۱- کارشناس ارشد میکروب‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران.
۲- استادیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران.
۳- دانش‌آموخته دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران.

دریافت مقاله: ۱۲ مرداد ۱۴۰۲، بازنگری: ۱۸ آبان ۱۴۰۲، پذیرش نهایی: ۲۰ آبان ۱۴۰۲

10.22034/nfvm.2024.409226.1198 20.1001.1.26454491.1402.6.2.3.1

چکیده

ورم پستان پرهزینه‌ترین بیماری تهدیدکننده صنعت پرورش گاو می‌باشد. این مطالعه توصیفی- مقطعی به منظور شناسایی عوامل باکتریایی ایجادکننده ورم پستان بالینی و تعیین میزان حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها در گاوهای شیری صنعتی در سطح شهرستان تبریز انجام شد. در این مطالعه ۲۳۴ نمونه شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی، مورد بررسی قرار گرفتند. پس از نمونه‌گیری، جداسازی و تشخیص عوامل باکتریایی با استفاده از روش‌های متداول میکروب شناسی و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها با استفاده از دیسک آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در سطح منطقه انجام شد. *اشریشیاکلای* با ۱۸/۸ درصد و استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت با ۱۷/۹ درصد بیشترین نقش را در ابتلا به ورم پستان در این مطالعه نشان دادند. استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی با ۱۲/۸ و باسیلوس‌ها با ۱۱/۹ درصد در رتبه بعدی بودند. *استرپتوکوکوس یوبریس* با ۱/۷ درصد، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، با ۰/۸۵ درصد، *ترووپرلا پیوژنز*، *کلبسیلا اکسی‌توکا*، موراکسلا و پاستورلا هرکدام با ۰/۴۲ درصد سایر جدایه‌ها را شامل می‌شدند. از ۸۰ نمونه مورد بررسی، باکتری جدا نشد. مقاومت بالا نسبت به اغلب آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه در تمام جدایه‌ها مشاهده شد. جنتامایسین با ۸۳/۹۵ درصد حساسیت مؤثرترین و پنی‌سیلین با ۱/۲۳ درصد کم‌اثرترین آنتی‌بیوتیک شناخته شدند. جدایه‌های *اشریشیاکلای*، استافیلوکوکوس کواگولاز منفی و باسیلاسه بیشترین حساسیت را به جنتامایسین و کمترین حساسیت را به پنی‌سیلین داشتند. کوتریموکسازول موثرترین و پنی‌سیلین کم‌اثرترین دارو علیه استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت بودند. آنتی‌بیوگرام و انتخاب صحیح آنتی‌بیوتیک قبل از شروع به درمان، تأثیر زیادی در کاهش مقاومت میکروبی در موارد ورم پستان خواهد داشت.

واژگان کلیدی: *ورم پستان بالینی گاو، عوامل باکتریایی، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: m_ghiyamirad@yahoo.com

مقدمه

ورم پستان (Mastitis) به بروز پاسخ سیستم دفاعی پستان در برابر اجرام بیماری‌زا اطلاق می‌شود (۱). علائم کلینیکی آن ممکن است قابل مشاهده: ورم پستان بالینی یا غیرقابل مشاهده: ورم پستان تحت بالینی باشد (۲، ۳). علائم ورم پستان کلینیکی می‌تواند از یک التهاب فوق حاد تا یک بیماری مزمن متفاوت باشد. گرمی، درد، تورم و سفت‌شدن پستان، کاهش شیر، ظهور ترشحات، تغییر رنگ، وجود لخته و افزایش سلول‌های سوماتیک در شیر که باعث افت کیفیت شیر می‌شوند از جمله علائم ورم پستان بالینی در گاو می‌باشند (۱، ۴). ورم پستان هم در دوران شیرواری و هم در دوران خشکی دام را مبتلا می‌کند (۳).

ورم پستان بی‌شک مهم‌ترین چالشی است که صنعت پرورش گاو شیری با آن مواجه بوده و از این راه خسارت اقتصادی فراوانی به گاوداری‌ها و صنعت تولید لبنیات وارد می‌کند. از جمله‌ی این خسارات کاهش تولید و افت کیفیت شیر، هزینه‌های دارو و دامپزشکی، هزینه منابع تلف شده مثل حذف یا مرگ احتمالی دام، هزینه حذف شیر در دوره بیماری و تأثیر نامطلوب بر باروری حیوان می‌باشد (۵-۷).

در آمریکا سالیانه حدود یک میلیارد دلار خسارت به صنعت شیر در اثر بیماری ورم پستان وارد می‌شود (۱). از آمار خسارت در کشور ما اطلاعات دقیقی در دست نیست ولی در مطالعه بلورچی و همکارانش در سال ۱۳۸۵، خسارت ورم پستان تحت کلینیکی تقریباً ۴۲۰ میلیارد ریال تخمین زده شد (۸)، که با توجه به افزایش قیمت فراورده‌های لبنی و هزینه‌های جاری، این رقم در حال حاضر بالغ بر میلیاردها تومان خواهد بود. عوامل ایجادکننده ورم پستان گاو از طریق مصرف شیر به انسان منتقل شده و می‌تواند باعث ایجاد بیماری‌هایی مثل گلودرد استرپتوکوکی در انسان شود. همچنین در شیردوشی سنتی فرد شیردوش نیز می‌تواند آلودگی را از گاوها کسب نماید (۷، ۹).

طیف وسیعی از باکتری‌ها از جمله *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) و استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی (Coagulase-negative Staphylococci)، استرپتوکوکوس‌ها خصوصاً *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* (*Streptococcus agalactiae*) و *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه* (*Streptococcus dysgalactiae*)، *کورینه باکتریوم بویس* (*Corynebacterium bovis*)، بعضی از گونه‌های جنس مایکوپلاسما (Mycoplasma spp)، برخی از باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه از جمله *اشریشیاکلای* (*E.coli*)، *کلبسیلا نومونیا* (*Klebsiella pneumonia*) و *کلبسیلا اکسی‌توکا* (*Klebsiella oxytoca*)، برخی گونه‌های پروتئوس Proteus و گونه‌هایی از جنس پاستورلا Pasteurella spp.، *مانهمیا همولیتیکا* (*Mannheimia haemolytica*) *سودوموناس آئروژینوزا* (*Pseudomonas aeroginosa*) و... می‌توانند در ایجاد ورم پستان نقش داشته باشند (۳، ۱۰، ۱۱، ۱۲). برای درمان ورم پستان باکتریایی پس از شناسایی عامل ایجادکننده بیماری باید آنتی‌بیوتیک مؤثر بر آن را تجویز کرد. میزان پاسخ به درمان به شناسایی دقیق عامل بیماری، سرعت شروع درمان و عواملی مثل تخلیه کارتیه مبتلا قبل از درمان بستگی دارد (۳-۵). پیدایش مقاومت نسبت‌به آنتی‌بیوتیک‌ها، درمان ورم پستان را با چالش‌های عمده مواجه کرده است. این میکروارگانیسم‌های مقاوم به‌عنوان تهدیدی مهم برای حیات انسان به‌شمار

می‌روند (۱۳، ۱۴).

با توجه به اینکه برای اجرای برنامه کنترل ورم پستان داشتن اطلاعات در مورد عوامل مسبب و درمان آن لازم است و از طرف دیگر با توجه به گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین باکتری‌ها از جمله باکتری‌های ایجادکننده ورم پستان در سال‌های اخیر و همچنین الگوی متفاوت مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها در مناطق مختلف جغرافیایی، این مطالعه با هدف شناسایی باکتری‌های ایجادکننده ورم پستان بالینی در گاوداری‌های صنعتی اطراف تبریز و تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی- مقطعی طی سال‌های ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ از ۲۳۴ رأس گاو مبتلا به ورم پستان بالینی، در مجتمع‌های صنعتی پرورش گاو شیری در شهرستان تبریز نمونه‌برداری شد. بدین منظور پس از مشخص شدن گاو بیمار و کارتیه درگیر، پستان با آب تمیز شسته شده و خشک گردید. سپس به‌طور کامل سرپستانک و نوک آن با پنبه استریل آغشته به الکل ۷۰ درصد ضد عفونی شده و پس از تبخیر الکل و خشک شدن کامل کارتیه درگیر، ابتدا چند دوشش اول دور ریخته شد تا میکروب‌های موجود در کانال سرپستانک و نوک آن خارج شوند. سپس ۲۰-۱۰ میلی‌لیتر شیر با دوشیدن پستان و با زاویه ۴۵ درجه وارد لوله‌های استریل که از قبل تهیه شده بود، گردید (۱۵). پس از درج مشخصات نمونه شامل شماره گاو، کارتیه درگیر، تاریخ اخذ نمونه و نوبت بارداری، محل اخذ نمونه، نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز انتقال داده شدند. تمام نمونه‌ها از گاوهای در مرحله شیرواری اخذ شد و هیچ‌کدام از گاوها قبل از نمونه‌برداری آنتی‌بیوتیک دریافت نکرده بودند. در ادامه در آزمایشگاه تحت شرایط استریل به لوله‌های آزمایش منتقل و در ۲۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید مایع رویی خارج و از رسوب به‌دست آمده از هر نمونه به‌صورت خطی در محیط‌های کشت، نوترینت آگار، بلاد آگار و پلیت کانت آگار (مرک آلمان) کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. جهت خالص‌سازی از پلیت‌هایی که دو نوع کلنی رشد کرده بود مجدداً کشت به عمل آمد. جهت شناسایی و تعیین جنس و گونه باکتری‌های جدا شده طبق توصیه منابع معتبر میکروب‌شناسی دامپزشکی از خصوصیات بیوشیمیایی و ظاهری کلنی‌ها و آزمایشات رنگ‌آمیزی گرم، کشت در محیط‌های اختصاصی، از جمله آگار خون‌دار (Blood Agar)، مانیتول سالت آگار، مک‌کانکی آگار، ائوزین متیلین بلو آگار (EMB)، محیط اختصاصی جداسازی *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* TKT، محیط TSI و همچنین آزمایش‌های سیترات، DNase، کاتالاز، کوآگولاز، متیل رد و وژس پرسکوئر (VP- MR)، حساسیت به باسیتراسین و نوبیوسین، احیای نیترات، اندول، تولید H_2S، هیدرولیز ژلاتین، هیدرولیز اوره، آزمایش CAMP، حرکت، تخمیر قندها استفاده شد (۱۵، ۱۶).

پس از شناسایی جدایه‌ها برای تعیین حساسیت آنها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی برای درمان ورم پستان در منطقه از روش انتشار از دیسک به روش کربی باوئر (Kirby & Bauer Disc diffusion Method) استفاده شد. به این منظور ابتدا از هر جدایه به‌صورت جداگانه سوسپاسیون میکروبی با کدورتی معادل کدورت نیم مک فارلند تهیه و سپس در سطح محیط مولر هینتون آگار به روش پخش یکنواخت، کشت داده شد. سپس با رعایت شرایط استریل دیسک‌های استاندارد حاوی آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر در سطح محیط مذکور با فاصله ۲۰ میلی‌متر از هم قرار داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. بدین منظور از دیسک‌های آنتی‌بیوگرام ساخت شرکت هندی هایمدیا شامل: پنی‌سیلین Penicillin (10 Unit) ، جنتامایسین Gentamicin (GM10)، سفیکسیم

Cefixime (CFM5)، سفتریاکسون (CRO 30) Ceftriaxone، تایلوزین (Tylosine (TY 30، تتراسایکلین (Tetracycline (T30، انروفلوکساسین (NFX50) Enrofloxacin و تری‌متوپریم/ سولفامتوکسازول (SXT Trimethoprim/Sulphamethoxazole (1.25/23.75 استفاده شد.

پس از طی زمان انکوباسیون، با استفاده از خط‌کش دقیق قطر هاله عدم رشد در اطراف هر یک از دیسک‌های مورد استفاده، بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شده و با استفاده از جدول استاندارد ارائه شده توسط شرکت سازنده دیسک‌های مذکور و استاندارد CLSI میزان حساسیت هر یک از جدایه‌ها، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر به‌صورت حساس (S)، نیمه‌حساس (I) و مقاوم (R) ثبت گردید (۱۷). آنالیز آماری و ارتباط یافته‌های پژوهش با متغییرهای تحت بررسی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و آزمون آماری مربع کای و سطح معنی‌داری P≤ O.O5 انجام گرفت.

نتایج

از ۲۳۴ نمونه اخذشده از گاوهای شیری آلوده به ورم پستان بالینی در این تحقیق نتیجه کشت باکتریایی ۸۰ نمونه (۳۴/۱۸ درصد) منفی بود. از ۴ نمونه دو نوع باکتری جداسازی شد. باکتری‌های جدا شده از موارد مثبت کشت، به‌ترتیب شامل: ۴۴ نمونه *اشریشیاکلای* (۱۸/۸ درصد جدایه‌ها)، ۴۲ مورد استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت (۱۷/۹ درصد)، شامل ۳۸ جدایه *استافیلوکوکوس اورئوس* و۴ جدایه *استافیلوکوکوس اینترمدیوس*، ۳۰ نمونه استافیلوکوکوس کوآگولاز منفی (۱۲/۸ درصد جدایه‌ها)، شامل *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* ۱۴مورد، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* ۸ مورد، *استافیلوکوکوس کاپرا* (*Staphylococcus caprae*)، ۶ مورد و ۲ مورد *استافیلوکوکوس کروموژنز* (*Staphylococcus chromogenes*)، ۲۸ جدایه از خانواده باسیلاسه (۱۱/۹ درصد جدایه‌ها) شامل *باسیلوس سرئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس* و *باسیلوس پانتوتنتیکوس* (*B.pantothenticus*)، ۴ جدایه *استرپتوکوکوس یوبریس* (۱/۷درصد) و دو جدایه *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* (۰/۸۵درصد) بودند . *کلبسیلا اکسی‌توکا*، *تروپرلا پایوژنز* (*Trueperella pyogens*) که قبلاً *آرکانو باکتر پایوژنز* نامیده می‌شد، موراکسلا ، پاستورلا، هر کدام در یک نمونه (۰/۴۲ درصد جدایه‌ها) شناسایی شدند (جدول ۱). بیشترین موارد ورم پستان در آبستنی دوم و سوم دیده شد (P ≤0.05). شایان ذکر است متوسط ماندگاری گاو در مجتمع‌های مورد مطالعه ۵ شکم زایش می‌باشد. از نظر میزان ابتلا به ورم پستان در فصول مختلف سال اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P≥ 0.05).

جدول ۱- تعداد و درصد باکتری‌های جداشده از موارد ورم پستان گاو

درصد	تعداد	باکتری‌های جداشده
۳۴/۱۸	۸۰	عدم شناسایی باکتری
۱۸/۸	۴۴	*اشریشیاکلای*
۱۶/۲	۳۸	*استافیلوکوکوس اورئوس*
۱/۷	۴	*استافیلوکوکوس اینترمدیوس*
۱۲/۸	۳۰	*استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی*
۱۱/۹	۲۸	*گونه‌های باسیلوس*
۱/۷	۴	*استرپتوکوکوس یوبریس*
۰/۸۵	۲	*استرپتوکوکوس آگالاکتیه*
۰/۴۲	هر کدام یک نمونه	*کلبسیلا اوکسی‌توکا- تروپرلا پیوژنز*- پاستورلا - موراکسلا

باکتری‌های جداشده بیشترین حساسیت را به‌ترتیب نسبت به جنتامایسین با (۸۳/۹۵ درصد موارد)، کوتریموکسازول (تری‌متوپریم– سولفامتوکسازول) با (۸۱/۴۸ درصد)، انروفلوکساسین (۶۷/۹۰ درصد)، سفتریاکسون (۶۲/۲۰ درصد)، تتراسایکلین (۶۲/۹۶ درصد)، تایلوزین (۳۴/۵۷ درصد)، سیفیکسیم (۲۵/۹۲ درصد) و کمترین حساسیت را نسبت به پنی‌سیلین با (۱/۲۳ درصد) نشان دادند. استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی تنها گروه حساس نسبت به داروی پنی‌سیلین بودند. مقاومت به جنتامایسین فقط در بین استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت و *اشریشیاکلای* دیده شد. نتایج حاصل از حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها به روش انتشار از دیسک در جدول ۲ نشان داده شده است. شایان ذکر است در مورد جدایه‌های سخت‌رشد و باکتری‌هایی که فقط یک مورد جداسازی وجود داشت آنتی‌بیوگرام صورت نگرفت.

جدول ۲- میزان حساسیت باکتری‌های اصلی جداشده از موارد ورم پستان نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه به درصد و تعداد

میزان حساسیت (درصد) / باکتری جدا شده	جنتامایسین	کوتریموکسازول	انروفلوکساسین	سفتریاکسون	تتراسایکلین	تایلوزین	سیفیکسیم	پنی سیلین
اشرشیا کلای	۹۳/۱ (۴۱)	۷۷/۲۷ (۳۴)	۷۷/۲۷ (۳۴)	۸۶/۳۶ (۳۸)	۴۰/۹ (۱۸)	۵۴/۵۴ (۲۱)	۶۳/۶۳ (۲۴)	۰ (۰)
استافیلوکوکوس‌اورئوس	۶۳/۱۵ (۲۴)	۸۱/۵ (۳۱)	۶۳/۱۵ (۲۴)	۷۱/۰۵ (۲۷)	۵۲/۶ (۲۰)	۷۱/۰۵ (۲۷)	۱۵/۷ (۵)	۰ (۰)
استافیلوکوکوس اینترمدیوس	۷۵ (۳)	۷۵ (۳)	۵۰ (۲)	۷۵ (۳)	۵۰ (۲)	۵۰ (۲)	۰ (۰)	۰ (۰)
استافیلوکوکوس کاپره آ	۱۰۰ (۶)	۸۳/۳ (۵)	۵۰ (۳)	۵۰ (۳)	۵۰ (۳)	۶۶/۶۶ (۴)	۳۳/۳ (۳)	۱۶/۶ (۱)
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۱۰۰ (۱۴)	۸۵/۷ (۱۲)	۴۲/۸۵ (۶)	۵۰ (۷)	۶۴/۲۸ (۹)	۶۴/۲۸ (۹)	۲۸/۵ (۴)	۰ (۰)
استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	۱۰۰ (۸)	۸۷/۵ (۷)	۵۰ (۴)	۳۷/۵ (۳)	۵۰ (۴)	۷۵ (۶)	۰ (۰)	۰ (۰)
استافیلوکوکوس کروموژنوس	۱۰۰ (۲)	۱۰۰ (۲)	۰ (۰)	۵۰ (۱)	۵۰ (۱)	۵۰ (۱)	۰ (۰)	۵۰ (۱)
باسیلوس سوبتیلیس	۱۰۰ (۱۴)	۱۰۰ (۱۴)	۷۱/۴ (۱۰)	۴۲/۸۵ (۶)	۸۵/۷۱ (۱۲)	۸۵/۷۱ (۱۲)	۱۴/۲۸ (۲)	۰ (۰)
باسیلوس سرئوس	۱۰۰ (۱۱)	۱۰۰ (۱۱)	۷۲/۷۲ (۸)	۴۵/۴۵ (۵)	۹۰/۹۰ (۱۰)	۹۰/۹۰ (۱۰)	۱۸/۱۸ (۲)	۰ (۰)
باسیلوس پانتوتنتیکوس	۱۰۰ (۳)	۱۰۰ (۳)	۷۵ (۲)	۵۰ (۲)	۱۰۰ (۳)	۱۰۰ (۳)	۰ (۰)	۰ (۰)
استرپتوکوکوس یوبریس	۱۰۰ (۴)	۵۰ (۲)	۵۰ (۲)	۵۰ (۲)	۵۰ (۲)	۵۰ (۲)	۰ (۰)	۰ (۰)

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر با هدف شناسایی عوامل باکتریایی ایجادکننده ورم پستان بالینی گاو و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جداشده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی در ۲۳۴ نمونه شیر، گاوهای مبتلا به ورم پستان مورد مطالعه قرار گرفتند. باکتری‌های

ایجادکننده ورم پستان بالینی در این مطالعه با اکثر مطالعات انجام شده در سایر مناطق دنیا و مخصوصاً ایران، از جمله مطالعات محمد صادق در گرمسار در سال ۱۳۹۱ (۱۸)، مطالعه سال ۱۳۹۱ سالکی و همکاران در ایلام (۱)، دادخواه در سراب ۱۳۸۹ (۱۹)، فوفا Fufa و همکاران در اتیوپی 2013 (۱۲)، ماهانتش Mahantesh و همکاران در هندوستان (۲۱)، گرین Green و همکارانش در آمریکا (۲۲)، مالینوسکی Malinowski و همکارانش در مجارستان (۲۳) مطابقت داشته و نشانگر این موضوع است که عوامل باکتریایی ذکر شده نقش اصلی را در ایجاد ورم پستان در نقاط مختلف دنیا بازی می‌کنند. البته در فراوانی جدایه‌ها با برخی مطالعات تفاوت هایی وجود دارد به‌طوری که در مطالعه زکی‌زاده بیشترین باکتری جداشده از خانواده استرپتوکوکاسه و در مطالعه صادق‌پور و همکاران استافیلوکوکوس‌ها بود (۷، ۱۴). در مطالعه شکوهی و همکاران در کشت و صنعت پارس کورینه باکتریوم‌ها طیف غالب را در بین باکتری‌های جداشده از ورم پستان به خود اختصاص داده بودند (۲۳). در تحقیق انجام گرفته توسط Mbindyo و همکاران در کنیا استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی با ۴۲/۸ درصد و گونه‌های استرپتوکوکوس با ۲۲/۲ درصد شایع‌ترین عوامل ایجادکننده ورم پستان گزاش شدند (۲۴).

الگوی متفاوت باکتری‌های جداشده از موارد ورم پستان می‌تواند ناشی از تفاوت در حجم نمونه، دوره شیرواری (خشک یا دوشا)، حساسیت نژادی گاوهای تحت مطالعه (در مطالعه حاضر تمام نمونه‌ها از گاوهای هلشتاین اصیل جداسازی شده بود)، نحوه پرورش دام‌ها (سنتی یا صنعتی)، بهداشت دامداری‌های تحت مطالعه، نوع ورم پستان مورد مطالعه (بالینی یا تحت بالینی) باشد. بالا بودن میزان جداسازی *اشریشیاکلای* در این مطالعه می‌تواند با بهداشت نامناسب هنگام شیردوشی و درجه آلودگی بستر نیز ارتباط داشته باشد. استافیلوکوکوس‌ها نیز علاوه بر منابع محیطی می‌توانند از کارگران ناقل به گاوها منتقل شوند که بهتر است در این خصوص مطالعات مستقلی صورت پذیرد. در مورد آلودگی مشاهده شده به اعضاء خانواده باسیلاسه امکان آلودگی محیطی را نیز باید در نظر داشت. در طی تحقیق حاضر از ۸۰ نمونه اخذ شده باکتری جدا نشد. مطالعات مختلف نشان داده که تقریباً ۲۵ تا ۳۰ درصد نمونه‌های بالینی در کشت منفی هستند به‌طوری که در مطالعه زکی‌زاده و همکاران از ۶۰ درصد نمونه‌ها در مطالعه شکوهی و همکاران از ۳۰ درصد نمونه ها و در مطالعه Mbindyo و همکاران در کنیا از ۲۳/۷ درصد نمونه‌ها باکتری جداسازی نشده بود (۷، ۲۴، ۲۵). احتمال دارد بسیاری از این موارد در اثر عفونت‌های کلی‌فرمی باشد که توسط دفاع ایمنی گاو تحت کنترل در آمده باشند (۳، ۱۰)، همچنین ممکن است سایر اجرام ایجادکننده ورم پستان از جمله مخمرها، مایکوپلاسماها که در این مطالعه بررسی نشده‌اند نیز عامل مسبب ورم پستان بوده باشند. آسیب به نمونه در حین انتقال به آزمایشگاه و هر بار انجماد و ذوب کردن نمونه‌ها نیز باعث کاهش باکتری‌های جدا شده می‌شود.

نتایج حاصل از بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های جداشده در این مطالعه مؤید کاهش حساسیت تمامی باکتری‌های جداشده به پنی‌سیلین و حساسیت قابل قبول به جنتامایسین، کوتریماکسازول و سفتریاکسون بود. به‌طوری که باکتری‌های جداشده بیشترین حساسیت را به‌ترتیب نسبت به جنتامایسین با ۸۳/۹۵ درصد، کوتریموکسازول (۸۱/۴۸ درصد) و انروفلوکساسین (۶۷/۹۰ درصد)، و کمترین حساسیت را نسبت به پنی‌سیلین با ۰/۲۳ درصد موارد نشان دادند. استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی تنها گروه حساس نسبت به داروی پنی‌سیلین بودند نتایج این بخش از مطالعه با نتایج برخی مطالعات انجام شده از جمله مطالعات مالینوسکی و همکاران (۲۳) و شکوهی و همکاران (۲۴) همخوانی داشته و با برخی دیگر از مطالعات تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد. به‌عنوان مثال در مطالعه صادق‌پور و همکاران بیشترین مقاومت به تایلوزین و استرپتومایسین و کمترین مقاومت به سیپروفلوکساسین

و ترادلتا مشاهده شد (۱۵) به‌طورکلی افزایش مقاومت نسبت به برخی داروها از جمله پنی‌سیلین را می‌توان به استفاده مکرر و بی‌دلیل آنتی‌بیوتیک‌ها توسط دامداران نسبت داد.

اختلافات مشاهده شده در حساسیت باکتری‌های جداشده به آنتی‌بیوتیک‌ها را می‌توان با الگوی متفاوت مصرف آنتی‌بیوتیک در درمان ورم پستان در مناطق جغرافیایی مختلف، مصرف خودسرانه دارو در سطح دامداری‌های منطقه، سطح بهداشتی دامپروری‌ها و همچنین کیفیت دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده در مطالعه در ارتباط دانست. ظهور و گسترش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها از معضلات مهم بهداشتی در سراسر جهان می‌باشد که احتمال دارد در اثر تماس با دام‌های آلوده یا مصرف فرآورده‌های حیوانات تحت درمان به جوامع انسانی گسترش یافته و مشکلات عدیده در درمان عفونت‌های میکروبی در انسان را باعث شوند (۱۰، ۱۶).

در این مطالعه از نظر میزان ابتلا به ورم پستان در فصول مختلف سال اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P\geq 0.05$). اما برخی از محققین اعتقاد دارند میزان وقوع ورم پستان در بسترکشیف در زمستان افزایش می‌یابد (۱۰، ۱۸)، لذا توصیه می‌شود مطالعه در بازه زمانی طولانی‌تری تکرار گردد.

در تحقیق حاضر بیشترین میزان ورم پستان در زایش دوم و سوم و کمترین مورد در شکم اول مشاهده شد. در مطالعه والیمونت Vallimont و همکاران نیز بیشترین وقوع ورم پستان در شکم سوم تا پنجم و کمترین مورد در شکم اول گزارش شد (۲۵). در مطالعه زکی‌زاده و همکاران و همچنین تحقیق ایاره و میرزایی بیشترین میزان ابتلا در شکم پنجم گزارش شده است (۷). به‌طور کلی مطالعات نشان داده‌اند که با افزایش سن و شکم زایش میزان ابتلا به ورم پستان نیز افزایش می‌یابد (۳، ۵، ۷). با توجه به میزان بالای شیوع بیماری ورم پستان و خسارات قابل توجه بیماری به صنعت پرورش گاو شیری، بهبود مدیریت و به کاربردن روش‌های بهداشتی و مراقبت از پستان جهت کاهش موارد ورم پستان الزامی است. همچنین با توجه به تنوع و تفاوت در باکتری‌های ایجادکننده ورم پستان و تفاوت در الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، انجام تست‌های تشخیصی و آنتی‌بیوگرام پیش از شروع درمان، جهت درمان صحیح جزء الزامات می‌باشد.

اشریشیاکلای و *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشترین نقش در ابتلا به ورم پستان کلینیکی را در این مطالعه نشان دادند. مقاومت بالای مشاهده شده در بین جدایه‌ها و احتمال انتقال این مقاومت به جوامع انسانی لزوم برقراری سیستم پایش و اطلاع‌رسانی در خصوص الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی عوامل ایجادکننده ورم پستان گاوی در هر منطقه به سبب کاهش ریسک ایجاد مقاومت میکروبی در بین باکتری‌ها را نشان می‌دهد.

سپاسگزاری: محققین بر خود لازم می‌دانند از آقای دکتر مسعود نیرومند به سبب همکاری در جمع‌آوری نمونه‌ها و مسئولین محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز که در انجام این تحقیق همکاری نمودند، تشکر و قدردانی نمایند.

References

1- Salaki K, Moradi H. Bacterial Agent of Mastitis in Dairy Cows Farms in Ilam City. *JIUMS*. 2011; 20(4): 88-95. [In Persian]

2- Pantoja J. Hulland C. Ruegg L. Dynamics of Somatic Cell Counts and Intra mammary Infections Across the Dry Period. *Prev Vet Med*. 2009; 1(90): 43-54.

3- Smith B.P, Van Metre D.C, Pasterla N. Large Animal Internal Medicine. 6th edition. 2019; USA. Elsevier; 1231-1310.

4- Rafeei barzaki M, Vand yousefi J, Ghods F, Agha tarahomi M. Studying the Prevalence of Bacterial Mastitis in Semnan. Province. *Pajouhesh va Sazandegi*. 1997; 34:110-111. [In Persian]

5- Smith K.L, Todhunter D.A, Schonberger P.S. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. *J DAIRY SCI.* 1985; 68: 1531-1553.

6- Losinger W.C. Economic impacts of reduced milk production associated an increase in bulk-tank somatic cell count on US dairies. *J.Am.Vet.Med.Assoc*. 2005; 226: 1652-1658.

7- Zakizadeh S, Saremi B, Rashid H, Najafi M, Savar Sofla S. Factors Affecting Mastitis, the Frequency of Pathogens and Estimation of Genetic Parameters. *IJAS*. 2020; 11(4): 513-526. [In Persian]

8- Bolourchi M, Mokhberdezfouli M.R., Kasravi R, Moghimi E.A, Hovareshti P. An estimation of national average of milk somatic cell count and production losses due to subclinical mastitis in commercial dairy herd in Iran. *IJVR*. 2008; 63: 263-266

9- Gindonis V, Taponen S, Myllyniemi A.L, Pyorala S, Nykasenoja S, Salmenlinna S, *et al.* Occurrence and characterization of methicillin resistant staphylococci from bovine mastitis milk samples in Finland. *Acta Vet.Scand*. 2013; 55(61): 2-8.

10- Edmondson P, Blowey R. The Veterinary Guide to Mastitis. *Intervet. 2001; UK*. Limited: 1-94.

11- Fadlelmula A, Dughaym A.M, Mohamed G.E, Deib M.K, Zubaidy A.J. Bovine Mastitis: Epidemiological, Clinical and Etiological Study in a Saudi Arabian Large Dairy Farm. *BJVM*. 2009; 12(3): 199–206.

12- Fufa A, Gemechis F, Bekele M, Alemayehu R. Bovine mastitis: Prevalence, risk factors and bacterial isolation in small-holder dairy farms in Addis Ababa city, Ethiopia. *GV*. 2013; 10(6): 647-652.

13- Beena A.K, Ranjini A.R, Riya T.G. Isolation of psychrotrophic multiple drug resistant pseudomonas from pasteurized milk. *Vet World*. 2011; 4(8): 89-97.

14- Sadeghpour M, Estabraghi E, Mokhtari A, Reihani S. An Antibiotic Resistance Pattern and Microbial Agents Isolated from Raw Milk Samples from Acute and Sub-Acute Cases of Mastitis in Livestock. *Journal of Payavard Salamat*. 2018; 11(6): 650-659. [In Persian]

15- Quinn P.J, Markey B.K, Leonard F.C, Fitzpatric E.S, Fanning S, Hartigan P.J. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. *Wiley-Black wel*. 2011: 179-263, 837-851.

16- Mahon C.R, Lehman D.C Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology. 2014 5th ed. USA: *Elsevier Health Sciences*: 762-96.

17- Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Eleventh Informational Supplement, CLSI document M 100-S. 2016; 26 th Edition.Volume 36, Number 1. ISBN 1-56238-923-8 (Print). CLSI, 1908-1898, Pennsylvania, USA.

18- Mohammadsadegh M, Askari Badouei M, Gorjidooz M, Daneshvar M, Koochakzadeh A. A Study on the Clinical Mastitis of Holstein Cows on Garmsar Suburban Dairy Farms. *JVM*. 2012; 8(2): 137-148. [In Persian]

19- Dadkhah M. Prevalence of mastitis caused by bacteria of Enterobacteriaceae family (coliforms) and determination of their antibiotic susceptibility in traditional farms of Sarab city. *The First National Conference on Emerging Veterinary Diseases*. 2010; Islamic Azad University, Babol Branch.

20- Mahantesh M.K, Basappa B.K. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Bacteria Isolated from Bovine Mastitis. *Adv. Appl. Sci. Res.* 2011; 2(6): 229-235.

21- Green M.J. Green L. Medley G. Schukken Y, Bradlay A. Influence of Dry Period Bacterial Intramammary Infecttion on Clinical Mastitis in Dairy Cows. *J. Dairy Sci*. 2002; 85(10): 2589-2599.

22- Malinowski E, Lassa H, Smulski S, Klossowska A, Kaczmarowski M. Antimicrobial Susceptibility of Bacteria Isolated from Cows with Mastitis in 2006-2007. *Bull Vet Inst Pulawy*. 2008; 52: 565-572.

23- Shokohi M, Ahmadizadeh Ch, Kaveh A. Evaluation of bacterial causes of subclinical mastitis in dairy cattle of Negine sabze Makoo agro-industrial and animal husbandry complex. *Vet. Clin. Pathol*. 2018; 11(44): 379-396. [In Persian]

24- Mbindyo C.M, Gitao G.C, Mulei. C.H M. Prevalence, Etiology, and Risk Factors of Mastitis in Dairy Cattle in Embu and Kajiado Counties, Kenya. *Vet. Med. Int*. 2020.

25- Vallimont, J.E, Dechow C.D, Sattler C.G, Clay J.S. Heritability estimates associated with alternative definitions of mastitis and correlations with somatic cell score and yield. *J. Dairy Sci.* 2009; 92(7): 3402–3410.

New Findings in Veterinary Medicine
Homepage: nfvm.uoz.ac.ir
Semiannual - Print ISSN: 2645-4491 Online ISSN: 2676-5004

Volume 6, Issue 2, Autumn & Winter 2023, pages: 74-82

Identification and Determination of Antibiotic Resistance Pattern of Bacterial Agents that Causes Bovine Clinical Mastitis in Tabriz

Solmaz Esrafili[1], Medi Ghiami Raad[2*] seyed Amin Mousavi Ara[3]

1- M.Sc Graduate in Microbiology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.
2- Assistant professor, Department of Microbiology, Faculty of basic science, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.
3- DVM Graduate, faculty of veterinary, Orumiyeh Branch, Islamic Azad University, Orumiyeh, Iran.

Receive: August 3, 2023; Revise: November 9, 2023; Accept: November 11, 2023

10.22034/nfvm.2024.409226.1198 20.1001.1.26454491.1402.6.2.3.1

Summary

Mastitis is the costliest disease threatening the cattle breeding industry. This study was designed to identify the bacterial agents that causes clinical mastitis and antibiotic susceptibility of isolates in dairy cattle in agro industrial complexes in Tabriz, Iran. In this study, 234 milk samples were collected from cows with clinical mastitis. The isolates were identified by standard microbiological methods. Antibiotic susceptibility of isolated were performed by disc diffusion method using antibiotic discs, frequently used in veterinary medicine in the region. The most isolated bacteria were *Escherichia coli* with (18/8%) of isolates, flowed by Coagulase positive staphylococci (17/9%), Coagulase negative staphylococci (12/8%), Bacillus species (11/9%), respectively. No bacterial agent was isolated from 80 samples. The *Escherichia coli* isolates had the highest susceptibility to Gentamicin (90%) and the lowest sensitivity to Penicillin (0%). This result was also true for isolates of Staphylococcus coagulase negative and isolated bacilli. Cotrirmaxazole was the most effective (80. 95%) and penicillin-less effective against coagulase-positive staphylococci. Gentamicin was found to be more effective antibiotic among all the tested antibiotics. The least sensitive antibiotic was Penicillin with 1/23% sensitivity. Coagulase negative staphylococcus was only sensitive group of isolates to penicillin. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* showed the most role in mastitis in this study. Resistance to antibiotics was observed in all isolates. Gentamicin with 83.95% sensitivity was the most effective and penicillin with 1/23% sensitivity was the least effective antibiotics. Antibiogram and choosing the correct antibiotic before treatment will have a great effect on reducing microbial resistance in mastitis.

Keywords: *Bovine Clinical Mastitis, Bacterial Agents ,Antibiotic Resistance Pattern*