

تأثیر تجویز اسانس اوجی (*Pulegium Mentha*) بر درمان ورم‌پستان تحت‌بالینی گاو

هلستان

کامل عموزاده آرائی^۱، هما محمدی فرد^۲، *محمد اسدی^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

^۲ دامپزشک عمومی، دانش آموخته دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل

^۳ دکتری تغذیه دام، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

نویسنده مسئول: Mohammadasadiseyed1994@yahoo.com

چکیده

ورم‌پستان که از التهاب غده‌ی پستانی ناشی می‌شود، شایع‌ترین و پرهزینه‌ترین بیماری است که گاوهای شیری در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. درمان ورم‌پستان در دوران شیردهی دام به دلیل مخاطرات آلودگی شیر به آنتی‌بیوتیک در گاوهای شیرده توصیه نمی‌شود. در این پژوهش از گیاه اوجی (*Pulegium Mentha*) برای درمان ورم‌پستان تحت‌بالینی گاو هلستان استفاده شد. بدین منظور ۵۰ رأس گاو هلستاین مبتلا به ورم‌پستان تحت‌بالینی با میانگین سنی ۴/۵ سال و در اواسط مرحله‌ی شیرواری با میانگین تولید $20 \pm 2/7$ انتخاب شدند. پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار و بیست و پنج تکرار انجام شد که تیمارها به صورت: ۱- شاهد (بدون تزریق اسانس اوجی به کارتیه‌ی پستان) ۲- تزریق ۵ میلی‌لیتر اسانس اوجی در هر کارتیه‌ی پستان. همچنین تغییرات در میزان تولید شیر، ترکیبات شیر و شمارش سلول‌های سوماتیک و نتایج کشت باکتریایی پیش از آغاز درمان و تا ۱۸ روز بعد از خاتمه‌ی درمان، مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نتایج پژوهش حاضر نشان‌داد، تزریق اسانس اوجی به کارتیه‌ی پستان سبب بهبود میانگین میزان تولید شیر، کاهش سلول‌های سوماتیک، افزایش درصد پروتئین، چربی و لاکتوز شیر گاوها شد ($P < 0/05$). هرچند از نظر حذف کلی عفونت‌های داخل پستانی بین تیمار اوجی و شاهد، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. به‌طور کلی نتایج بررسی حاصل نشان دادند که می‌توان از اسانس اوجی در درمان ورم‌پستان تحت‌بالینی گاوها استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اسانس اوجی، تولید شیر، گاو هلستاین، ورم‌پستان.

مقدمه

ورم‌پستان که از التهاب غده‌ی پستانی ناشی می‌شود، شایع‌ترین و پرهزینه‌ترین بیماری می‌باشد که گاوهای شیری در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۷). التهاب غدد پستانی با عفونت باکتریایی همراه است و تحت تأثیر عوامل متعدد مربوط به مدیریت، جایگاه و دوشش قرار می‌گیرد. این بیماری باعث کاهش تولید و کیفیت شیر می‌شود و به دلیل بیماری‌های مشترک بین انسان و دام که در آن شیر به‌عنوان حاملی برای برخی از عوامل عفونی عمل می‌کند، برای سلامت عمومی اهمیت بسیار حیاتی دارد (۲). بسته به شدت التهاب، ورم‌پستان را می‌توان به اشکال تحت‌بالینی، بالینی و مزمن طبقه‌بندی کرد و درجه‌ی آن

به سن، نژاد، سیستم ایمنی و وضعیت شیردهی حیوان بستگی دارد (۱۱). برخلاف شکل بالینی، ورم پستان تحت بالینی هیچ تغییر قابل مشاهده‌ای در کیفیت شیر یا وضعیت پستان نشان نمی‌دهد، اما تولید شیر را کاهش داده و باکتری‌ها در ترشحات ظاهر می‌شوند (۴۹). زبان‌های مالی ناشی از ورم پستان در هر دو مرحله‌ی تحت‌بالینی و بالینی بیماری رخ می‌دهد و شامل هزینه‌های درمان، کاهش تولید شیر و حذف زودرس دام از گله می‌شود (۵۳). شایع‌ترین پاتوژن‌های ورم پستان توسط طیف وسیعی از باکتری‌ها ایجاد می‌شوند که می‌توانند به‌عنوان محیطی (اشریشیا کلی، استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس اوبریس، اتروکوکوس فکالیس و استافیلوکوکوس) طبقه بندی شوند (۲۱). عوامل بیماری‌زای ورم پستان معمولاً از طریق تماس پستانک‌ها با خاک، بستر، آب آلوده با مواد مدفوع و گاو به گاو منتقل می‌شوند (۴۴). عفونت از طریق فومایت‌های (ناقل غیرفعال) آلوده به شیر در هنگام شیردوشی، توسط دستان شیردوش یا دستگاه شیردوشی منتقل می‌شود (۸، ۳۰).

رایج‌ترین درمان ورم پستان با تجویز آنتی‌بیوتیک داخل‌پستانی در قسمت‌های آلوده‌ی پستان و تزریق عضلانی است (۶). استفاده‌ی مکرر از آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان ورم پستان برای مدت طولانی ممکن است باعث ایجاد مقاومت دارویی شود که به افزایش دز آنتی‌بیوتیک‌ها نیاز دارد، این عمل منجر به تجمع مقادیر زیادی آنتی‌بیوتیک در شیر و فرآورده‌های آن و انتقال آن به انسان می‌شود. ظهور سویه‌های مقاوم به دارو و همچنین وجود باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها در فرآورده‌های غذایی خطرات بهداشتی مهمی برای انسان دارد (۵۱). از طرف دیگر، بسیاری از گونه‌های باکتریایی به یک یا چند آنتی‌بیوتیک مورد استفاده در درمان ورم پستان گاوی مقاوم هستند (۱۸). رشد روز افزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی به میکروارگانیسم‌ها، توسعه و جستجوی عوامل ضد میکروبی جدید را برای مبارزه با این مشکل ضروری می‌کند. از سوی دیگر، با توجه به افزایش بالقوه مقاومت باکتری‌های بیماری‌زا به آنتی‌بیوتیک‌ها، محققان به دنبال مواد ضد میکروبی جدید با منشأ گیاهی به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های ناکارآمد هستند (۱۹، ۳۰). گیاهان دارویی سرشار از طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه مانند تانن‌ها، آلکالوئیدها و فلاونوئیدها هستند که مشخص شده در شرایط آزمایشگاهی دارای خواص ضد میکروبی هستند (۲۶، ۳۱). گزارش‌های متعددی در مورد فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاهی وجود دارد (۱۹). بسیاری از گیاهان برای درمان اختلالات گوارشی، بیماری‌های تنفسی و عفونت‌های پوستی یافت شده‌اند (۴۳).

اوجی یا پونه‌ی کوهی با نام علمی *Pulegium Mentha* و از خانواده‌ی Labiatae می‌باشد. این خانواده شامل ۲۰ گونه است که در سراسر دنیا پراکنده بوده و در ایران در مناطق شمالی ایران در مازندران و گیلان به‌طور خودرو رشد می‌کند. ماده‌ی مؤثره‌ی مهم پونه‌ی کوهی پولگون (Pulegone) و ماده‌ی ضد عفونی کننده‌ی آن منتول (Menthol) می‌باشد (۳). همچنین پونه‌ی کوهی حاوی فنول (Phenol)، تیمول (Thymol)، کارواکرول (Carvacrol)، هیدروکربن‌های مونوترپن (Monoterpene)، پی‌سیمن (P-Cymene) و آلفا ترپینن (α -Terpinene) است که جزو مواد با اثر ضد میکروبی و باکتری طبیعی بی‌خطر طبقه‌بندی می‌شوند (۴، ۲۸، ۵۴). گزارش شده است که کارواکرول، یکی از اجزای اصلی ضد باکتری اسانس پونه‌ی کوهی، زیست لایه (Biofilm) را در مرحله‌ی رشد اولیه مهار می‌کند و از تشکیل زیست لایه‌های بالغ جلوگیری می‌کند. همچنین ترکیبات فنلی موجود در اسانس پونه‌ی کوهی با تغییر سطح سلولی باکتری، از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کند، که ممکن است از چسبندگی باکتری به سلول‌های اپیتلیال پستان جلوگیری کند (۳۷). از اهمیت استفاده از گیاهان دارویی را می‌توان به عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری‌زا نسبت به آن‌ها، نداشتن اثرات سوء بر حیوان و محیط‌زیست (۴۶) و نیز باقی نماندن بقایای مضر آن در فرآورده‌های تولیدی و مقرون به‌صرفه بودن اشاره کرد (۳). بسیاری از این گیاهان دارویی نیز برای درمان گاو، گوسفند، طیور، اسب و خوک استفاده می‌شود (۴). علاوه بر این، هیچ گزارشی مبنی بر مقاومت ضد میکروبی در برابر این فایتوبیوتیک‌ها ثبت نشده است که احتمالاً به دلیل مکانیسم‌های متعدد عمل آن‌ها است که به‌طور بالقوه از انتخاب سویه‌های مقاوم باکتری جلوگیری می‌کند (۴۸). تعداد زیادی از مطالعات منتشر شده در زمینه‌ی درمان ضد میکروبی با استفاده از محصولات طبیعی (۳۸، ۱۰)، از جمله مطالعات در مورد اثر

ضد میکروبی محصولات گیاهی بر پاتوژن‌های جدا شده از ورم‌پستان وجود دارد (۱۴، ۱۵). گزارش شد که اسانس آویشن شیرازی سبب کاهش رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت شد (۹). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، تجویز اسانس آویشن شیرازی برای ورم‌پستان تحت‌بالینی منجر به حذف باکتری‌های مولد ورم‌پستان شد (۴۵). در این پژوهش تاثیر اسانس اوجی به‌صورت تزریق داخل پستانی بر ورم‌پستان تحت بالینی گاوهای هلشتاین مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر در یک دامداری صنعتی شیری در اطراف کرج با ظرفیت ۵۰۰ رأس گاو دوشا صورت گرفت. در طی مطالعه‌ی ۵۰ رأس از گاوهایی که میانگین چهار رکوردگیری سلول‌های سوماتیک (SCC) شیر آن‌ها بیشتر از ۳۰۰۰۰۰ در هر میلی‌لیتر بود انتخاب شدند (۴۵). میانگین سنی گاوهای مورد مطالعه، ۴/۵ سال با سه شکم زایش و همگی در اواسط مرحله شیردهی قرار داشتند. گاوهای مورد مطالعه به شکل بالینی در سلامتی کامل بودند و هیچگونه علائمی از بیماری‌های دیگری را نشان نمی‌دادند و به لحاظ وضعیت فیزیولوژیکی در شرایط مطلوبی به‌سر می‌بردند. یافتن موارد تحت‌بالینی با کمک آزمون تشخیص سریع، آزمون ورم‌پستان کالیفرنایی (CMT) صورت گرفت. بر این اساس گاوهایی با ورم‌پستان تحت‌بالینی به شکل تصادفی در دو گروه شاهد و گروه درمان با اوجی با ۲۵ تکرار تقسیم شدند. تیمارها شامل: ۱- کنترل (بدون تزریق اسانس اوجی به کارتی‌ه‌ی پستان) ۲- تزریق ۵ میلی‌لیتر اسانس اوجی در هر کارتی‌ه‌ی پستان. جدول ۱ نتیجه آنالیز ترکیبات اسانس اوجی مورد استفاده در این پژوهش را با دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی را نشان می‌دهد.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی اسانس اوجی در آنالیز GC/MS

نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	درصد ترکیب
پولگون	۲۰/۱۱	۳۷/۹۶
منتول	۱۷/۸۸	۱۸/۶۶
کارواکرول	۱۵/۳۶	۱۳/۷۰
تیمول	۱۴/۶۶	۱۱/۸۰
ترپینن	۱۳/۳۱	۱۰/۸۰
آلفا ترپینن	۱۳/۰۹	۲/۹۰
آلفا پینن	۱۰/۱۴	۰/۷۶
پی‌سیمن	۹/۸۸	۰/۴۸

از کارتی‌ه‌هایی که با درجه‌ی بالایی از (CMT) قابل تشخیص بودند، پس از ضدعفونی کردن سر پستانک‌ها و دور ریختن پیش دوشش‌ها، نمونه‌ی شیر اخذ گردید. نمونه‌ها در کنار یخ و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شده و ظرف مدت کمتر از یک ساعت به آزمایشگاه منتقل شدند. از هر کارتی‌ه سه نمونه‌ی شیر تهیه شد که از دو نمونه برای کشت باکتریایی و یک نمونه برای آزمایش ترکیبات شیر و شمارش سلول‌های سوماتیک استفاده شد. یکی از دو نمونه‌ی تهیه شده برای آزمون باکتریایی جهت پشتیبانی از نتایج آزمایشگاه به صورت منجمد شده نگهداری شد. همزمان با نمونه‌گیری، میزان تولید شیر هرگاو به‌طور جداگانه ثبت می‌شد. تغییرات در میزان تولید شیر، ترکیبات شیر و شمارش سلول‌های سوماتیک و نتایج کشت باکتریایی پیش از آغاز درمان و تا ۱۸ روز بعد از خاتمه‌ی درمان، مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

به‌منظور تعیین ترکیبات شیر گاوها، به‌میزان ۲۰-۱۵ میلی‌لیتر شیر تهیه و به آزمایشگاه ارسال شد. غلظت‌های چربی، پروتئین و لاکتوز توسط دستگاه میکواسکن اندازه‌گیری شدند. آنالیز شمارش سلول‌های سوماتیک با روش دستی صورت گرفت (۴۵).

بدین منظور بعد از تهیه‌ی گسترش نمونه‌های شیر بر روی لام شیشه‌ای، شمارش سلول‌ها توسط میکروسکوپ نوری انجام شد. سلول‌های سوماتیک شامل، نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت، ائوزینوفیل، پلاسماسل و اپیتلیال سل هستند. پیش از درمان انتهای سر پستان توسط سوآپ پنبه‌ای با الکل ۹۵٪ تمیز شد. بعد از گذشت ۱۸ روز از آغاز درمان تغییرات شیر، شمارش سلول‌های سوماتیک، میزان تولید و کشت باکتریایی بررسی شدند. پس از انتقال نمونه‌های گرفته‌شده به آزمایشگاه سانتریفوژ ۳۰۰۰ دور برای ۳ دقیقه بر گرم صورت گرفت و توسط سوآپ استریل از نمونه‌ها بر روی محیط‌های متداول و به‌صورت استاندارد کشت شد. در این مطالعه از ماده‌ی دی‌متیل سولفوکسید (DMSO) به‌عنوان ماده‌ی امولوسی‌فایر برای رقیق نمودن اسانس استفاده شد و بر اساس آزمایش از رقتی از این ماده استفاده شد که خاصیت ضد میکروبی نداشته باشد. پس از تهیه‌ی لوله‌ی کشت *E. coli* با رقت ۱:۲۵۰ از کشت ۲۴ ساعته‌ی باکتری‌ها و ترکیب رقیق شده‌ی اسانس با استفاده از حلال دی‌متیل سولفوکسید در ۹ لوله‌ی درپوش دار استریل (به جز لوله‌ی شماره ۱) به‌میزان ۱ سی‌سی ترکیب رقیق شده‌ی اسانس را پس از تکان دادن به لوله‌ی شماره‌ی ۱ و ۲ افزوده و پس از تکان دادن لوله‌ی شماره ۲ به‌میزان ۱ سی‌سی از محلول این لوله را به لوله‌ی شماره‌ی ۳ انتقال داده و این روند تا لوله‌ی شماره‌ی ۹ ادامه یافت و در نهایت ۱ سی‌سی از محلول شماره‌ی ۹ دور ریخته شد. پس از این مرحله به‌میزان ۱ سی‌سی سوسپانسیون میکروبی با رقت ۱:۲۵۰ مقایسه شده با استاندارد نیم مکفارلند، به لوله‌های ۲ تا آخر افزوده شد و درب لوله‌ها محکم بسته شد و داخل گرم‌خانه‌ی ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. برای قرائت نتایج از سمت لوله‌ی شاهد، لوله‌ها را نگاه کرده و آخرین لوله‌ی شفاف به‌عنوان MIC انتخاب شد که دلیل بر عدم رشد باکتری در آن لوله‌ها می‌باشد. برای تایید این نتیجه علاوه بر لوله‌ی MIC، از یک لوله‌ی قبل و یک لوله‌ی بعد از آن نیز بر روی محیط آگار ژلوز خون‌دار کشت داده‌شد و پس از آن ۲۴ ساعت غلظت لوله‌ای که یک کلونی یا حداکثر سه کلونی در محیط ایجاد کرده بود به‌عنوان MBC در نظر گرفته‌شد (۴۵). لازم به ذکر است که در این آزمایش لوله‌ی شماره‌ی ۱ شاهد منفی (از نظر رشد) است، که حاوی ۱ سی‌سی سوسپانسیون میکروبی با رقت ۱:۲۵۰ و یک سی‌سی ترکیب رقیق شده‌ی اسانس اوجی می‌باشد، که با وجود دارا بودن باکتری، به‌دلیل حضور اسانس اوجی و نبود محیط کشت شفاف می‌باشد. لازم به ذکر است جهت اطمینان از نتایج حاصل، آزمایش MIC برای هر نمونه ۲ بار انجام شد و در هر بار نتایج تقریباً مشابه‌ای به‌دست آمد.

واکاوی داده‌ها

پژوهش حاضر، با دو تیمار و بیست و پنج تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) انجام شد. رویه‌ی GLM برای تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (2003) و برای تعیین تفاوت‌های معنی‌دار از آزمون‌های چندگانه‌ی دانکن استفاده شد.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

Y_{ij} = هر مشاهده از متغیر مورد اندازه‌گیری

μ = میانگین کل

T_i = اثر تیمار i ام

e_{ij} = اثر خطای آزمایشی مربوط به تیمار i ام در تکرار j ام

نتایج

ترکیب شیمیایی اسانس اوجی در جدول ۱ آمده است. نتایج آنالیز اوجی نشان می‌دهد که بیش‌ترین ماده‌ی موثره‌ی موجود در اوجی به ترتیب پولگون، منتول، کارواکرول، تیمول و تربینن بود.

میزان تولید شیر در هر وعده پیش از درمان، یک هفته پس از درمان و ۱۸ روز بعد از درمان مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، میانگین میزان تولید شیر در گروه شاهد از ۱۹/۸۹ کیلوگرم قبل از درمان به ۱۸/۵۹ کیلوگرم در یک هفته بعد از درمان و ۱۷/۷۸ کیلوگرم بعد از گذشت ۱۸ روز بعد از درمان رسید. در گروه درمان میانگین میزان تولید شیر در زمان قبل از درمان ۲۰/۶۷ کیلوگرم بود که بعد از گذشت یک هفته به ۱۹/۵۳ کیلوگرم کاهش پیدا کرد، ولی بعد از گذشت ۱۸ روز به ۲۱/۸۸ کیلوگرم افزایش یافت. از طرفی دیگر، اختلاف معنی‌داری در ۱۸ روز پس از تجویز اوجی از نظر میزان شیر تولیدی وجود داشت ($P < 0.05$).

جدول ۲- تاثیر اسانس اوجی بر روی میزان تولید شیر (کیلوگرم) قبل و بعد از درمان

نوع درمان	قبل از درمان	۷ روز پس از درمان	۱۸ روز پس از درمان	درصد تغییر
شاهد	۱۹/۸۹±۱/۹۲	۱۸/۵۹±۰/۹۹	۱۷/۷۸±۱/۵۵ ^b	-۱۰/۶۱
حاوی اوجی	۲۰/۶۷±۱/۷۱	۱۹/۵۳±۱/۱۷	۲۱/۸۸±۲/۰۱ ^a	+۵/۸۵
P-Value	۰/۶۷۸	۰/۵۱۱	۰/۰۱۱	

اطلاعات حاصل از تاثیر اسانس اوجی بر روی ترکیبات شیر قبل و بعد از درمان گاوها در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان دادند که ۷ و ۱۸ روز پس از درمان گاوهای مبتلا به ورم‌پستان، تعداد سلول‌های سوماتیک کاهش، درصد پروتئین و چربی شیر نیز افزایش یافت ($P < 0.05$). علاوه بر این درصد لاکتوز شیر در زمان ۱۸ روز پس از درمان نیز بهبود یافت ($P < 0.05$).

جدول ۳- تاثیر اسانس اوجی بر روی ترکیبات شیر قبل و بعد از درمان

نوع درمان	قبل از درمان	۷ روز پس از درمان	۱۸ روز پس از درمان
سلول‌های سوماتیک			
شاهد	۶۴۱۸۸۸	۵۶۰۴۳۳±۳۱۱ ^a	۵۱۹۷۶۲±۲۵۶ ^a
حاوی اوجی	۶۳۹۲۲۷	۵۱۰۳۷۶±۲۸۸ ^b	۴۸۴۱۱۶±۲۸۷ ^b
P-Value	۰/۴۱۸	۰/۰۲۸	۰/۰۰۱
درصد پروتئین			
شاهد	۲/۸۸±۰/۳۱	۲/۷۴±۰/۱۷ ^b	۲/۷۱±۰/۲۱ ^b
حاوی اوجی	۲/۸۴±۰/۱۹	۳/۱۷±۰/۲۲ ^a	۳/۱۹±۰/۱۱ ^a
P-Value	۰/۷۱۸	۰/۰۴۶	۰/۰۲۹
درصد چربی			
شاهد	۲/۸۰±۰/۲۱	۲/۷۸±۰/۱۸ ^b	۲/۷۶±۰/۲۱ ^b
حاوی اوجی	۲/۸۸±۰/۱۹	۳/۰۶±۰/۱۳ ^a	۳/۱۳±۰/۰۹ ^a
P-Value	۰/۸۹۶	۰/۰۴۱	۰/۰۴۴
درصد لاکتوز			
شاهد	۴/۶۷±۰/۲۷	۴/۶۵±۰/۳۱	۴/۵۰±۰/۲۷ ^b
حاوی اوجی	۴/۷۱±۰/۱۷	۴/۸۸±۰/۱۳	۵/۰۱±۰/۲۸ ^a
P-Value	۰/۶۸۷	۰/۵۴۶	۰/۰۰۱

نتایج مربوط به تاثیر اسانس اوجی در حذف کلی عفونت‌های داخل‌پستانی در جدول ۴ و ۵ آمده است. بعد از تجویز داخل‌پستانی اوجی و درمان به مدت ۳ روز، میزان عفونت داخل پستان کاهش یافت. به طوری که درصد حذف عفونت داخل‌پستانی برای گروه حاوی اوجی، ۶۸٪ (۱۷ نمونه از ۲۵) بود و نسبت به گروه شاهد تعداد عفونت بیش تری حذف شده است. در گروه درمانی اوجی حذف موارد آلودگی به *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* به ترتیب ۶۸/۴۲٪ و ۷۰٪ بود و با افزایش زمان پس از درمان نیز تعداد این باکتری‌ها کاهش یافت. در گروه شاهد این نتایج در مورد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* به ترتیب ۲۷/۷۷٪ و ۳۷/۱۵٪ بود.

جدول شماره ۴- تاثیر اسانس اوجی در حذف کلی عفونت‌های داخل پستانی

نوع درمان	تعداد عفونت	حذف عفونت	درصد حذف عفونت
شاهد	۲۵	۹	۰±۳۶/۸۷ ^b
حاوی اوجی	۲۵	۱۷	۱±۶۸/۱۴ ^a
P-Value			۰/۰۰۱

جدول شماره ۵- تاثیر اسانس اوجی در حذف کلی عفونت‌های داخل پستانی

نوع درمان	قبل از درمان	۷ روز پس از درمان	۱۸ روز پس از درمان	درصد حذف
استرپتوکوک				
شاهد	۸	۶	۵	۳۷/۱±۵۰/۷۰ ^b
حاوی اوجی	۱۰	۶	۳	۰±۷۰/۹۷ ^a
P-Value				۰/۰۰۱
استافیلوکوک				
شاهد	۱۸	۱۶	۱۳	۲۷/۰±۷۷/۴۷ ^b
حاوی اوجی	۱۹	۱۵	۶	۶۸/۳±۴۲/۱۱ ^a
P-Value				۰/۰۰۱
استرپتوکوک + استافیلوکوک				
شاهد	۲۶	۲۲	۱۸	۳۰/۰±۷۶/۸۱ ^b
حاوی اوجی	۲۹	۲۱	۹	۶۸/۲±۹۶/۶۱ ^a
P-Value				۰/۰۰۱

بحث و نتیجه‌گیری

ورم‌پستان به‌عنوان مهم‌ترین و پرهزینه‌ترین نوع بیماری در گاوهای شیری در نظر گرفته شده است، که تلفات آن نیمی از کل هزینه‌های بهداشتی در کل دامداری را تشکیل می‌دهد (۲۳). گزارش شده است که وجود ورم‌پستان به گروه‌هایی از گاوهای با

تولید شیر بالا مرتبط است که نشان دهنده‌ی زیان‌های مالی زیادی برای تولیدکنندگان گاوهای شیری است که ضرر آن‌ها به‌دلیل حذف شیر از حیوانات تحت‌درمان است (۴۱). اطلاعات در رابطه با اثر تجویز اسانس اوجی بر میزان تولید شیر بسیار اندک است. با این حال، مطالعات نشان می‌دهند که تجویز اسانس آویشن شیرازی به کارتی‌هی پستان، موجب افزایش میانگین تولید شیر گاوها می‌شود (۴۵). تاکنون پژوهشی مبنی بر اثر اسانس اوجی بر افزایش شیر در گاو وجود ندارد. در بررسی حاضر، گروه دریافت‌کننده‌ی اوجی ۱۸ روز پس از درمان نسبت به گروه شاهد شیر بیشتری تولید نمودند. جهت تعیین علت دقیق این عمل پژوهش‌های بیش‌تری مورد نیاز می‌باشد.

ورم‌پستان سبب تغییرات در ترکیب شیر می‌شود. این تغییرات اولاً ناشی از کاهش فعالیت سنتز اجزای اصلی شیر (مانند چربی، لاکتوز و کازئین) و ثانیاً افزایش حضور عناصر خونی به‌دلیل واکنش التهابی (مانند پروتئین‌ها، آلبومین سرم و ایمونوگلوبولین‌ها، کلرید و سدیم) است (۲۴). با این حال، سیستم‌های قیمت‌گذاری فعلی شیر بیش‌تر بر بازده کل چربی و پروتئین کل (یا درصد) و شاخص لیپولیز شیر تحویلی تکیه دارند. بنابراین تنها تغییرات در این پارامترها ممکن است پیامدهای اقتصادی در مزرعه داشته باشد (۱۷). درمان با گیاهان دارویی احتمالاً با تغییر تعادل میکروب در شکمبه نسبت داده می‌شود. گیاهان دارویی حاوی ساپونین هستند که می‌تواند به تعادل میکروب در شکمبه با تعداد کم میکروب‌های با پتانسیل بیماری‌زایی کمک کند. این وضعیت باعث pH مطلوب مایع شکمبه می‌شود. این شرایط اکولوژی شکمبه بهتری را تشکیل می‌دهد و نتایج آزمایش آزمايشگاهي برای باکتری‌های شکمبه، غلظت آمونیاک و اسید چرب فرآر در این تیمارها بهترین نتایج را به‌دست می‌دهد (۳۳، ۳۴). تغذیه‌ی مناسب نشخوارکنندگان به دو عامل بستگی دارد: اسید چرب فرآر (Volatile Fatty Acids) و جمعیت میکروارگانيسم بزرگ در شکمبه. جمعیت زیادی از میکروارگانيسم‌ها مسئول افزایش تولید اسید چرب فرآر (اسید استیک و اسید پروپیونیک) هستند. اسید استیک عملکرد پیش‌ساز چربی شیر و اسید پروپیونیک عملکرد سنتز گلوکز است (۲۰، ۵۰). علاوه بر این، شرایط اکولوژی شکمبه بر کیفیت و کمیت تولید گاوهای شیری تأثیر می‌گذارد (۳۳).

گیاهان دارویی به‌دلیل ترکیب آنتی‌اکسیدانی و پتانسیل ضد التهابی که دارند می‌توانند نفوذپذیری سلول‌های آلوئولی را افزایش داده و به تعادل اکولوژیکی شکمبه کمک کنند (۳۴). نتایج این پژوهش نشان داد که مکمل‌های گیاهی به‌طور معنی‌داری بر وضعیت ورم‌پستان تأثیر می‌گذارد که هم‌سو با مطالعه‌ی **Nurdin** و همکاران بود (۳۲). آنها گزارش کردند استفاده از مکمل‌های گیاهی با بازگرداندن ترکیبات شیر به حالت طبیعی همراه بود و گیاهان می‌توانند موارد ورم‌پستان را کاهش دهند. این اثر مثبت می‌تواند ناشی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی (آلکالوئید، ساپونین، فلاوانوئید و تری‌پنوئید) باشد که می‌تواند نفوذپذیری سلول‌های آلوئول را افزایش داده و استقامت بدن را افزایش دهد. در راستای پژوهش حاضر گزارش کردند که میانگین شمارش سلول‌های سوماتیک از ۶۳۱۸۱۸ عدد سلول در یک میلی‌لیتر شیر پیش از تجویز آویشن شیرازی به ۵۲۰۴۵۴ عدد سلول در یک میلی‌لیتر، شیر در ۷ روز بعد از درمان کاهش یافت. همین‌طور در گروه درمانی حاوی اسانس آویشن، میانگین شمارش از ۶۲۶۴۷۰ عدد سلول قبل از درمان به ۴۹۴۱۱۷ عدد سلول یک هفته بعد از درمان کاهش یافت. در مطالعه‌ی حاضر اسانس اوجی به‌طور نسبی باعث کاهش التهاب بافت پستان و کاهش تعداد سلول‌های سوماتیک شد. ۱۸ روز پس از تجویز اسانس آویشن به کارتی‌هی گاوهای مبتلا به ورم‌پستان تعداد سلول‌های سوماتیک شیر در گروه درمان به نصف میزان آن در قبل از درمان کاهش یافت. همچنین در گروه شاهد نیز کاهش محسوس تعداد سلول‌های سوماتیک در روزهای ۷ و ۱۸ پس از درمان مشاهده گردید (۴۵).

سلول‌های سوماتیک عمدتاً سلول‌های اپیتلیال ترشح‌کننده‌ی شیر هستند که از پوشش غده و گلبول‌های سفید خون (لکوسیت‌ها) که در پاسخ به آسیب یا عفونت وارد غده‌ی پستانی شده‌اند تشکیل شده‌اند (۴۶). سلول‌های سوماتیک شیر شامل ۷۵٪ لکوسیت‌ها، یعنی نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها، لنفوسیت‌ها، گلبول‌های قرمز و ۲۵٪ سلول‌های اپیتلیال هستند. (۴۲). سلول‌های اپیتلیال به‌طور

معمول ترشح می‌شوند، اما در طول عفونت، تعداد آنها افزایش می‌یابد. گلبول‌های سفید به عنوان یک مکانیسم دفاعی برای مبارزه با عفونت و کمک به ترمیم بافت آسیب دیده عمل می‌کنند. در طول التهاب (ورم‌پستان) افزایش عمده‌ی تعداد سلول‌های سوماتیک به دلیل هجوم نوتروفیل‌ها به شیر برای مبارزه با عفونت است و بیش از ۹۰٪ تخمین زده شده است (۱۲).

استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان یک پاتوژن اصلی عامل ورم‌پستان تحت‌بالینی در گاو شناخته شده است که در اثر کلونیزاسیون و درونی شدن آن در سلول‌های اپیتلیال و اندوتلیال غدد پستانی ایجاد می‌شود (۲۲). اثر ممانعت‌کنندگی رشد میکروبی گیاهان دارویی برای مدت‌های طولانی است که شناخته شده و اخیراً مورد توجه بسیاری از پژوهشگران بوده است. کارواکرول و تیمول موجود در اسانس اوجی بیش‌ترین اثرات ضد میکروبی را در میان این ترکیبات دارند (۲۸). از طرفی دیگر بهبود بافت پارانیشیمی غدد پستانی در حیوانات ورم‌پستان را می‌توان با آنتی‌بیوتیک‌ها انجام داد، در واقع بر شرایط ورم‌پستان با پاسخ ایمنی بدن غلبه می‌شود (۱۶). معمولاً درمان دارویی ورم‌پستان تزریق آنتی‌بیوتیک از داخل پستانی است. اما کنترل شیر حاوی باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیک بسیار مشکل بود. این تلاش این فرصت را افزایش داد که بقایای آنتی‌بیوتیک در محصولات دامی وجود داشته باشد و ماده‌ی متابولیکی در بدن تولید کند. سلامت عمومی را به خطر می‌اندازد. در اغلب موارد آنتی‌بیوتیک مطابق با قوانین قابل اجرا استفاده نشده است. علاوه بر این، کنترل شیری که حاوی باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی است، بسیار دشوار بوده است (۳۶، ۷). جایگزین دیگری برای افزایش دفاع بدن، مکمل گیاهان دارویی بود که خاصیت آنتی‌اکسیدانسی و ضد التهابی دارند. این گیاهان برای مدت طولانی توسط بسیاری از افراد برای غلبه بر التهابی که در انسان رخ می‌دهد استفاده می‌شود (۲۹، ۲۵).

با این حال، هم‌سو با نتایج حاضر گزارش شده است که، غلظت‌های مختلف اسانس آویشن شیرازی تاثیر مهارکنندگی بر روی میزان رشد باکتری‌های *سالمونلا تیفی* موریوم و *استافیلوکوکوس اورئوس* در محیط کشت داشت (۹). همچنین در در مطالعه‌ی دیگر تجویز اسانس آویشن شیرازی توانسته است در ۶۸٪ از موارد ورم‌پستان تحت‌بالینی منجر به حذف عوامل عفونی باکتریایی موجود در شیر گردد. در این بین بیش‌ترین تاثیر این اسانس بر روی باکتری *استریپتوکوکوس آگالاکتیه* (۴۲/۷۱٪) و در درجه‌ی بعدی بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (۶۶/۶۶٪) بوده است (۴۵). در پژوهشی دیگر که بر روی اثرات آنتی‌باکتریال آویشن شیرازی بر عوامل اصلی ایجاد کننده‌ی ورم‌پستان گاو (محیطی و مسری) در شرایط آزمایشگاهی انجام شد، حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی این ترکیب در مورد سویه‌های مولد ورم‌پستان بسیار بیش‌تر از سویه‌های استاندارد بود (۵۲). در مطالعات اخیر فعالیت ضد باکتریایی خانواده‌ی نعنائیان علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا شده از شیرهای گاو مبتلا به ورم‌پستان گزارش شده است (۵، ۲۸). همچنین آزمایشی که روی اثرات ضد باکتریایی رزماری انجام شد، نشان داد که اسانس گیاه رزماری در محدوده‌ی غلظتی معین دارای اثر آنتی‌باکتریایی است. با افزایش غلظت اسانس اثر آنتی‌باکتریایی هم افزایش یافته است. این عمل می‌تواند به دلیل افزایش میزان غلظت مواد موثره‌ای باشد که با افزایش غلظت اسانس میزان آن‌ها افزایش می‌یابد (۳۵). در مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثرات آنتی‌باکتریایی سیر با غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۲۰٪ بر روی باکتری‌های مولد ورم‌پستان در گاو انجام شد، مشخص شد که در غلظت‌های بالاتر اسانس سیر، اثرات مهارتی بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استریپتوکوکوس آگالاکتیه* بیش‌تر است (۳۹). از دلایل کاهش باکتری در این پژوهش می‌توان به حضور ترکیبات فنولی و ضد میکروبی مثل تیمول، کارواکرول پی‌سیمن و ترپینن اشاره کرد (۵۲). کارواکرول عملکرد غشای سلولی را از طریق تغییر در نفوذ پذیری کانال‌های غشایی مختل کرده و با تغییر در شیب غلظت یونی منجر به توقف و اختلال در عملکرد سلول‌های باکتری و مرگ آن‌ها می‌شود (۱۳). نتایج پژوهش حاضر نشان داد تزریق اسانس اوجی به میزان ۵ میلی‌لیتر به کارتیبه‌ی پستان سبب بهبود میانگین میزان تولید شیر، کاهش سلول‌های سوماتیک، افزایش درصد پروتئین، چربی و لاکتوز شیر گاوها شده است. همچنین تجویز اسانس اوجی به کارتیبه‌ی پستان سبب کاهش عفونت‌های داخل پستانی و کاهش باکترهای مولد ورم‌پستان شد. به‌طور کلی نتایج بررسی حاصل نشان داد که می‌توان از اسانس اوجی در درمان ورم‌پستان تحت‌بالینی گاوها استفاده نمود.

1. **Ahmad I, Aqil F.** In vitro efficacy of bioactive extracts of 15 medicinal plants against ES β L-producing multidrug-resistant enteric bacteria. *Microbiol. Res.* 2007; 162: 264-275.
2. **Ahmady M, Kazemi S.** Detection of the enterotoxigenic genes (sei, sej) in *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis milk in the West Azerbaijan of Iran. *Comp. Clin Pathol.* 2013; 22(4): 649-654 [In Persian].
3. **Amozadeh Araee K, Ghoorchi T, Toghory A, Asadi M, Mehrani K.** The effect of different levels of *Mentha Pulegium* on performance, nutrient digestibility, rumination behavior, blood and rumen parameters of dalagh ewes. *J. Anim. Pro.* 2023; 25(1), 71-81. [In Persian].
4. **Ananda Baskaran S, Kazmer, GW, Hinckley L, Andrew SM, Venkitanarayanan K.** Antibacterial Effect of Plant-Derived Antimicrobials on Major Bacterial Mastitis Pathogens in Vitro. *J. Dairy Sci.* 2009; 92(4):1423–29.
5. **Azizkhani M, Misaghi A, Basti AA, Gandomi H, Hosseini H.** Effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and gene expression of enterotoxins A, C and E in *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *Int. J. Food Microbiol.* 2013; 163(2-3): 159-165.
6. **Barkema HW, Schukken YH, Zadoks RN.** Invited Review: The Role of Cow, Pathogen, and Treatment Regimen in the Therapeutic Success of Bovine *Staphylococcus aureus* Mastitis. *J. Dairy Sci.* 2006; 89: 1877–1895.
7. **Barton MD, Hart WS,** Public Health Risks: Antibiotic Resistance. Review. *Asian- Aust. J. Anim. Sci.* 2001; 14(3): 414-442.
8. **Barua M, Prodhan MAM, Islam K, Chowdhury S, Hasanuzzaman M, Imtiaz MA, et al.,** Seasonal effects on milk yield, erythrocytic and leukocytic indices of Kankrej cattle (*Bos indicus*). *Vet. World.* 2014; 7: 483-488.
9. **Basti AA, Misaghi A, Khaschabi D.** Growth response and modeling of the effects of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil, pH and temperature on *Salmonella typhimorium* and *Staphylococcus aureus*. *LWT- Food Science and Technol.* 2007; 40: 973 - 81.
10. **Boldootar D, El-Seedi HR, Findakly M, Jabri S, Javzan B, Choidash B, et al.** Antigenotoxic and antioxidant effects of the Mongolian medicinal plant *Leptopyrum fumaroides* (L): An in vitro study. *J. Ethnopharmacol.* 2014; 155, 559–606.
11. **Bradley AJ.** Bovine mastitis: An evolving disease. *Vet. J.* 2002; 164, 116–128.
12. **Cho BW, Cha CN, Lee SM, Kim MJ, Park JY, Yoo CY, Lee HJ.** Therapeutic effect of oregano essential oil on subclinical bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Korean J Vet Res.* 2015; 55(4): 253-257.
13. **De Sousa R.** Plant-based pesticides: Potent-tial of apiaceae essential oils. PhD Thesis. Universidade do Minho (Portugal). 2016; 1: 110.
14. **Dorman HJD, Deans SG.** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 2000; 88: 308–316.
15. **Gopinath SM, Suneetha TB, Mruganka VD.** Chemical prophylaxis and antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of some medicinal plants against bovine mastitis. *Int. J. Adv. Biol. Res.* 2011; 1: 93–95.
16. **Gravert HO.** Dairy Cattle Production. Institute for Milk Production. Federal Dairy Research Centre Kiel FRG. Elsevier Sci. Publ. B.V. New York. 1987.
17. **Hortet P, Seegers H.** Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. *Pre. Vet. Med.* 1988; 37(1-4): 1-20.
18. **Islam B, Khan SN, Haque I, Alam M, Mushfiq M., Khan AU.** Novel anti-adherence activity of mulberry leaves: Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm by 1-deoxynojirimycin isolated from *Morus alba*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2008; 62: 751-757.
19. **Islam MA, Islam MZ, Islam MA, Rahman MS, Islam MT.** Prevalence of subclinical mastitis in dairy cows in selected areas of Bangladesh. *Bangladesh J. Vet. Med.* 2011; 9: 73-78.

20. **Kalscheur KF, Baldwin RL, Glenn BP, Kohn RA.** Milk production of dairy cows differing concentration of rumen-degraded protein. *J. Dairy Sci.* 2006; 89: 249 – 259.
21. **Keane OM, Budd KE, Flynn J, McCoy F.** Pathogen profile of clinical mastitis in Irish milk-recording herds reveals a complex aetiology. *Vet. Rec.* 2013; 173: 17.
22. **Kim DH, Lim JJ, Lee JJ, Kim DG, Chang HH, Lee SJ, et al.,** Dehydrating and bacterial elimination effects of fecal dehydrating system for reducing bovine mastitis derived from environmental contamination. *Korean J Vet Res.* 2009; 49: 257-263.
23. **Lam TJGM, Rugg PL, McDougall S.** Good veterinary practices on udder health: what to do, what not to do and opportunities. *Entorno Ganadero.* 2015; 71: 24-31.
24. **Larson BL, Heary HL, Devery JR, Devery JE.** Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *J. Dairy Sci.* 1980; 63: 665±671.
25. **Lee SB, Cha KH, Kim SN, Altantsetseg S, Shatar S, Sarangerel O.** The antimicrobial activity of essential oil from *Dracocephalum foetidum* against pathogenic microorganisms. *J. Microbiol.* 2007; 45: 53-57.
26. **Lewis K, Ausubel FM.** Prospects of plant derived antibacterials. *Nat. Biotechnol.* 2006; 24: 1504-1507.
27. **Li R, Jiang Z.T.** Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. from China. *Flavour and Fragrance J.* 2004; 19(4):311-313.
28. **Mahboubi M, Haghi G.** Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. Essential oil. *J. Ethnopharmacol.* 2008;119: 325- 327.
29. **Martin M, McCorkle CM, Mathias E.** *Ethnoveterinary Medicine: An Annotated Bibliography of Community Animal Healthcare.* Intermediate Technology Development Group Publishing, London. 2001.
30. **Mir AQ, Bansal BK, Gupta DK.** Subclinical mastitis in machine milked dairy farms in Punjab: prevalence, distribution of bacteria and current antibiogram. *Vet. World.* 2014; 7: 291-294.
31. **Mubarack HM, Doss A, Vijayasanthi M, Venkataswamy R.** Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Coimbatore, Tamilnadu, South India. *Vet. World.* 2012; 5: 352-355.
32. **Nurdin E, Amelia T, Makin M.** The effects of herbs on milk yield and milk quality of mastitis dairy cow. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 2011; 36(2): 104-108.
33. **Nurdin E, Arief A.** The Effectivity of Cumin as natural-antioxidant to improve rumen ecology of mastitis dairy cow's. *J. Produksi Ternak (University of Jenderal Soedirman).* 2009; 11(3):114-119.
34. **Nurdin E.** Pemanfaatan kunyit manga (*Curcuma mangga*) terhadap ekologi rumen sapi perah Holstein. *J. Penelitian Unja.* 2010; 12(3): 86-89.
35. **Okoh OO, Sadimenko AP, Afolayan AJ.** Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chem.* 2010; 120:308-12.
36. **Owens WE, Nickerson SC, Boddie RL, Tomita GM, Ray CH.** Prevalence of mastitis in dairy heifers and effectiveness of antibiotic therapy. *J. Dairy Sci.* 2001; 84: 814- 817.
37. **Paşca C, Mărghitaş L, Dezmiorean D, Bobiş O, Bonta V, Chirilă F, et al.,** Medicinal plants based products tested on pathogens isolated from mastitis milk. *Molecules.* 2017; 22(9): 1473.
38. **Rios JL, Recio MC.** Medicinal plants and antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 100: 80–84.
39. **Safi thria M, Bintang M, Poeloenganb M.** Antibacterial Activity of Garlic Extract Against some Pathogenic Animal Bacteria. *Med. Peternakan.* 2011; 155-158.
40. **SAS Institute.** User's Guide. Version 9.1: Statistics. SAS Institute, Cary, NC. 2003.
41. **Sewalem A, Miglior F, Kistemaker GJ, Van Doormaal BJ.** Analisis of the relationship between somatic cell score and functional longevity in Canadian dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 3609-3614.
42. **Sharma N, Singh NK, Bhadwal MS.** Relationship of somatic cell count and mastitis: an overview. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2011, 24, 429-438.
43. **Somchit MN, Reezal I, Nur IE, Mutalib AR.** In vitro antibacterial activity of ethanol and water extracts of *Cassia alata*. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 84: 1-4.
44. **Sudhakar PA, Narendra VK., Vikas MS, Mangesh SM.** Prevalence and current antibiogram trend of mastitic agents in Udgir and its vicinity, Maharashtra State, India. *Int. J. Dairy Sci.* 2009; 4: 117-122.

45. **Tajik P, Darabi MR, Lotfollah-zadeh S, Mohammad-sadegh M.** Effects of Zataria multiflora Boiss (ZMB) Essential Oil on Treatment of Sub - Clinical Mastitis in Dairy Cow. J.Med. Plants. 2012; 10(39): 81-87. [In Persian].
46. **Toghory A, Ghoorchi T, Asadi M, Bokharaeian M, Najafi M, Ghassemi Nejad J.** Effects of Environmental Temperature and Humidity on Milk Composition, Microbial Load, and Somatic Cells in Milk of Holstein Dairy Cows in the Northeast Regions of Iran. Animals. 2022; 12(18): 2484[In Persian].
47. **Unakal CG, Kaliwal BB.** Prevalence and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus from bovine mastitis. Vet. World. 2010; 3: 65-67.
48. **Upadhyay A, Upadhyaya I, Kollanoor-Johny A, Venkitanarayanan K.** Combating pathogenic microorganisms using plant-derived antimicrobials: A minireview of the mechanistic basis. BioMed Res. Int. 2014.
49. **Viguier C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O'Kennedy R.** Mastitis detection: Current trends and future perspectives. Trends Biotechnol. 2009; 27: 486–493.
50. **Wang C, Liu JX, Yuan ZP, Mu YM, Zhai SW, Ye HW.** Effect of level of metabolizable protein on milk production in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 2006; 90: 2960-2965.
51. **White DG, McDermott PF.** Emergence and transfer of antibiotic resistance. J. Dairy Sci. 2001; 84: E151–E155.
52. **Zahraei-Salehi T, Vojgani M, Bayat M, Torshizi H, Akhondzadeh A.** Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of extract of Zataria multiflora against Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus and E. coli. J. V. R. 2005; 60: 107 - 10.
53. **Zeedan GS, Abdalhamed AM, Abdeen E, Ottai ME, Abdel-Shafy S.** Evaluation of antibacterial effect of some Sinai medicinal plant extracts on bacteria isolated from bovine mastitis. Vet. World. 2014; 7(11).
54. **Zhou F, Baoping J, Hong Z, Hui J, Zhiwei Y, Jingjing L, Jihai L, Yali R, Wenjie Y.** Synergistic Effect of Thymol and Carvacrol Combined with Chelators and Organic Acids against Salmonella Typhimurium. J. Food. Protection. 2007; 70(7):1704–9.

The effect of administering *Mentha Pulegium* essential oil on the treatment of subclinical mastitis in Holstein cows

Kamel Amozadeh Araee¹, Homa Mohammadi Fard², *Mohammad Asadi³

¹ Master's student, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

² General veterinarian, graduate of Islamic Azad University, Babol

³ PhD in Animal Nutrition, Faculty of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Corresponding author: Mohammadasadiseyed1994@yahoo.com

Abstract

Mastitis, which is caused by inflammation of the mammary gland, is the most common and costly disease that affects dairy cows around the world. Treatment of mastitis during lactation is not recommended due to the risks of milk contamination with antibiotics in lactating cows. In this research, (*Pulegium Mentha*) plant was used to treat subclinical mastitis in Holstein cows. For this purpose, 50 Holstein cows with subclinical mastitis with an average age of 4.5 years and in the middle of the lactation stage with an average production of 20 ± 2.7 were selected. The research was conducted in the form of a completely randomized design with two treatments and twenty-five repetitions, which treatments were: 1- control (no injection of Oji essential oil into the breast area) 2- injection of Oji essential oil into the breast area. The results of the present study showed that the injection of Oji essential oil into the mammary gland improved the average amount of milk production, reduced somatic cells, and increased the percentage of protein, fat and lactose in cows' milk ($P < 0.05$). However, there was no significant difference between the Oji treatment and the control in terms of total elimination of intramammary infections. In general, the results of the study showed that Oji essential oil can be used in the treatment of subclinical mastitis in cows

Key words: Holstein Cow, Mentha Pulegium, Milk Production, Mastitis.