

## بررسی عوامل باکتریایی ورم پستان تحت‌بالینی در گاوهای شیری مجتمع کشت‌و‌صنعت و دامداری نگین سبز ماکو

مهدی شکوهی<sup>۱</sup>، چنگیز احمدی‌زاده<sup>۲\*</sup>، امیرعلی کاوه<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران.

۲- استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران.

۳- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: [ch-ahmadizadeh@iau-ahar.ac.ir](mailto:ch-ahmadizadeh@iau-ahar.ac.ir)

(دریافت مقاله: ۹۶/۶/۵ پذیرش نهایی: ۹۶/۱۱/۱۶)

### چکیده

عفونت پستانی در گاو و کاهش مقاومت حیوان نسبت به عوامل بیماری‌زا، منجر به بروز فرم حاد و بالینی ورم پستان می‌شود که یکی از مشکلات اصلی و مهم در پرورش گاوهای شیری به‌شمار می‌رود. هدف از انجام این مطالعه، شناسایی عوامل ایجادکننده ورم پستان تحت‌بالینی در گاوهای شیری در جهت پیشگیری از بروز خسارات بهداشتی و اقتصادی در صنعت دام‌پروری می‌باشد. برای انجام این مطالعه در مجتمع کشت‌و‌صنعت و دامداری نگین سبز ماکو، روزانه به‌طور مرتب و در نوبت دوشش صبح پس از نمونه‌گیری از شیر دوشیده شده، محلول شیرآزما به‌طور هم‌حجم به‌عنوان معرف به آن اضافه شده و مخلوط شیر و معرف به مدت چند دقیقه به صورت دورانی هم‌زده شد. لخته شدن مخلوط شیر و معرف، موید وجود ورم پستان تحت‌بالینی بود. نمونه‌های مثبت جمع‌آوری شده در هر نوبت دوشش، در کنار یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی ارسال شده و کشت میکروبی و آنتی‌بیوگرام روی آن‌ها انجام گرفت. بیشترین باکتری‌های جداشده شامل کورینه باکتری (۱۲/۵۴ درصد)، استافیلوکوکوس اورئوس (۷/۹۲ درصد)، استرپتوکوکوس آگالاکتیه (۴/۶۲ درصد)، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۴/۶۲ درصد)، استافیلوکوکوس اپیدرمیس (۳/۳ درصد)، باسیلوس (۲/۶۴ درصد)، استرپتومایسس (۱/۹۸ درصد) بودند. ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی، بیشترین حساسیت را به جنتامایسین و بیشترین مقاومت را به پنی‌سیلین نشان داد. نتایج مطالعه نشان‌دهنده مقاومت جدایه‌های باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پرمصرف مانند پنی‌سیلین، استرپتومایسین و تا حدی تراسایکلین بود ولی حساسیت به جنتامایسین که کمتر مورد استفاده قرار گرفته است، بالا بود.

کلیدواژه‌ها: باکتری، ورم پستان تحت‌بالینی، گاو شیری، کشت و صنعت و دامداری نگین سبز ماکو.

## مقدمه

به التهاب غده پستانی بدون توجه به علت آن، اصطلاحاً ورم پستان (mastitis) اطلاق می‌شود که با تغییرات فیزیکی، شیمیایی و میکروبی شیر و تغییرات در بافت غده پستانی مشخص می‌شود. بروز عفونت پستانی در گاو و کاهش مقاومت حیوان نسبت به عوامل بیماری‌زا منجر به بروز فرم حاد و بالینی ورم پستان شده و این عارضه به عنوان یکی از مسائل مهم در پرورش گاو به شمار می‌رود (Bradley, 2002). مهم‌ترین تغییراتی که در نتیجه ورم پستان در شیر ایجاد می‌شود شامل: تغییر رنگ، وجود لخته و پیدایش تعداد زیادی لکوسیت (گلبول سفید) با علائم تورم، گرمی، درد و سفت شدن غدد پستانی می‌باشد (Holtenius et al., 2004) در بسیاری از کشورها ورم پستان یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در بین گاوهای شیری است (Bradley, 2002). ورم پستان هم در دوران شیرواری، و هم دوران خشکی، پستان دام‌ها را مبتلا می‌کند و به‌عنوان پرهزینه‌ترین بیماری گاوهای شیری در سراسر جهان مطرح است، به طوری که سالانه خسارات زیادی را به صنعت دامپروری در جهان وارد می‌سازد. خسارات اقتصادی آن ناشی از کاهش تولید و افت کیفیت شیر، هزینه‌های درمان و حتی تلفات دامی می‌باشد (Phuektes et al., 2001). علاوه بر فرم حاد و بالینی ورم پستان که همراه علائم عمومی هست، فرم تحت‌بالینی ورم پستان نیز در گاوهای شیری اتفاق می‌افتد که معمولاً بدون علامت ظاهری مشخص می‌باشد. هر دو شکل حاد و تحت‌بالینی ورم پستان می‌تواند روی باروری حیوان نیز اثرات نامطلوبی بر جای گذارند (Nicholas and Ayling, 2003). در

آمریکا کاهش تولید ناشی از ورم پستان تحت‌بالینی، سالانه در حدود یک میلیارد دلار (۱۱۰ دلار به‌ازای هر گاو) خسارت به صنعت شیری این کشور وارد می‌کند و طبق آماری دیگر ۷۰ درصد از موارد کاهش تولید شیر در گله مربوط به ورم پستان تحت‌بالینی است (Beaudeau et al., 1995). هر چند در ایران آمار دقیقی در خصوص رتبه‌بندی و مقایسه خسارات ناشی از بیماری‌ها تاکنون منتشر نشده ولی به نظر می‌رسد که ورم پستان تحت‌بالینی در کنار بیماری‌های تولیدمثلی، لنگش و برخی بیماری‌های شایع دیگر نظیر لوکوز و یون از مهم‌ترین و زیان‌بارترین بیماری‌هایی باشد که گله‌های شیری کشور را تهدید می‌کند. اطلاعات چند سال اخیر در بیش از ۳۴ گله صنعتی بزرگ، متوسط و کوچک در ایران نشان می‌دهد که میزان بروز ورم پستان بین ۰/۵ تا ۲۵ درصد در هر ماه بوده است. افت تولید شیر تنها از ناحیه ورم پستان تحت‌بالینی در سال ۱۳۸۵ تقریباً ۱۵۰ هزار تن در سطح ملی تخمین زده شده است (تقریباً ۴۲۰ کیلوگرم در هر دوره شیرواری) که بر پایه بهای خرید هر کیلوگرم شیر در سال ۱۳۸۵ (۲۸۰۰ ریال) تقریباً ۴۲۰ میلیارد ریال تخمین زده شده است (Bolourchi et al., 2008). این رقم با توجه به افزایش قیمت فرآورده‌های لبنی در سال ۱۳۹۱ تقریباً سه برابر شده است. از سویی دیگر ورم پستان با کاهش تولید شیر، افزایش هزینه تولید و کاهش کیفیت شیر علاوه بر خسارات اقتصادی فراوان به گاوداری‌های شیری و صنعت تولید شیر، موجب آلودگی میکروبی شیر شده و گاهی وسیله‌ای برای انتقال بیماری به انسان می‌باشد (Philpot and Nickerson, 2000). با توجه به این‌که ورم پستان به‌عنوان پرهزینه‌ترین بیماری گاو شیری

شناخته شده است، لذا جمع‌آوری اطلاعات در زمینه این بیماری در هر منطقه جهت کنترل بیماری و کاهش خسارات لازم می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه شناسایی عوامل ایجادکننده ورم پستان تحت‌بالینی در بزرگترین گاوداری صنعتی (مجتمع کشت‌و صنعت و دامپروری نگین سبز ماکو) می‌باشد، تا بدین وسیله قدمی در جهت پیشگیری از خسارات بهداشتی و اقتصادی در این حوزه برداشته شده باشد.

### مواد و روش‌ها

محل انجام این مطالعه مجتمع کشت‌و صنعت و دامداری نگین سبز ماکو بود. در گاوداری این مجتمع روزانه و به طور مرتب در نوبت دوشش صبح، از گاوهای شیری دوشا، نمونه‌گیری و آزمایش ورم پستان کالیفرنایی جهت شناسایی دام‌های مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی انجام گردید. بدین منظور، پس از ورود گاو به سالن و در طی آماده‌سازی پستان جهت دوشش یعنی شستشوی کارتیه‌ها با آب ولرم و خشک کردن آنها، ابتدا سه دوشش اول هر کارتیه تخلیه شده و سپس از هر کارتیه نمونه شیر جداگانه در فنجانک‌های ظرف مخصوص تست، دوشیده شد. میزان دوشش از هر کارتیه تقریباً به اندازه ۱۰ میلی‌لیتر بود. پس از نمونه‌گیری هم‌حجم شیر به آن محلول شیرآزما به عنوان معرف اضافه گردید و مخلوط شیر و معرف به مدت چند دقیقه به صورت دورانی هم‌زده شد. لخته شدن مخلوط شیر و معرف، موید وجود ورم پستان تحت‌بالینی بود. میزان لخته شدن به سه صورت شامل: درجه ۱ (لخته کم)، درجه ۲ (لخته ۵۰ درصد) و درجه ۳ (کاملاً لخته) ثبت گردید. پس از تأیید وجود ورم

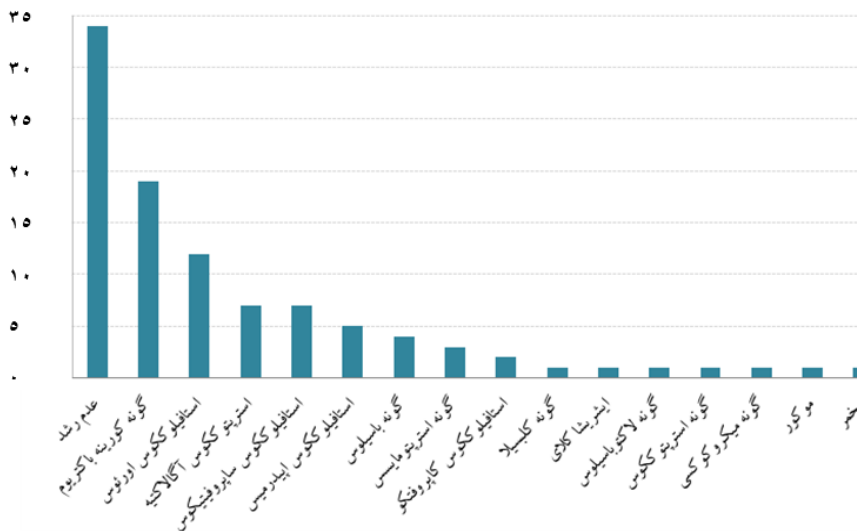
پستان تحت‌بالینی و اطمینان از این که دام مزبور علایم ورم پستان حاد و بالینی (از قبیل تب، بی‌اشتهایی، درد، سفت شدن و قرمزی پستان یا تغییر ظاهری شیر) را ندارد، کارتیه‌های درگیر با پنبه و الکل اتیلیک ضد عفونی گردید و با رعایت شرایط استریل مقداری شیر به داخل ظرف نمونه‌برداری دوشیده شد. لازم به ذکر است که ظرف نمونه شیر با زاویه ۴۵ درجه نسبت به کارتیه قرار می‌گرفت تا از ورود سایر عوامل نظیر گرد و خاک موجود روی پستان به داخل ظرف جلوگیری شود. در حین انجام نمونه‌گیری و تست، شماره دام‌ها و نیز کارتیه درگیر ثبت می‌گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده در هر نوبت دوشش، در کنار یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی ارسال شده و کشت میکروبی و آنتی‌بیوگرام در مورد آنها صورت گرفت. به این صورت که شیر منتقل شده به آزمایشگاه در شرایط استریل داخل لوله آزمایش ریخته شده و با دور ۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. از رسوب به دست آمده در محیط‌های BHI آگار و بلاد آگار (blood agar) کشت داده شد و به مدت ۲۴ الی ۷۲ ساعت انکوبه گردید. سپس، از کلونی غالب دوباره در محیط BHI آگار خالص‌سازی به عمل آمد. از کلونی‌های خالص رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، تست اکسیداز و کشت در محیط OF انجام شد و طبق جدول موجود در آزمایشگاه جنس باکتری تشخیص داده شد و باکتری در محیط کشت مولر هینتون آگار (muller-hinton agar) کشت داده شده و دیسک‌های آنتی‌بیوگرام به فاصله ۲/۵ سانتی‌متر از هم قرار داده شد. این کار در مجموع روی ۱۰۰ نمونه شیر آلوده صورت گرفت. در نهایت

نتایج حاصل توسط روش‌های آماری توصیفی و تعیین فراوانی مورد تحلیل قرار گرفت.

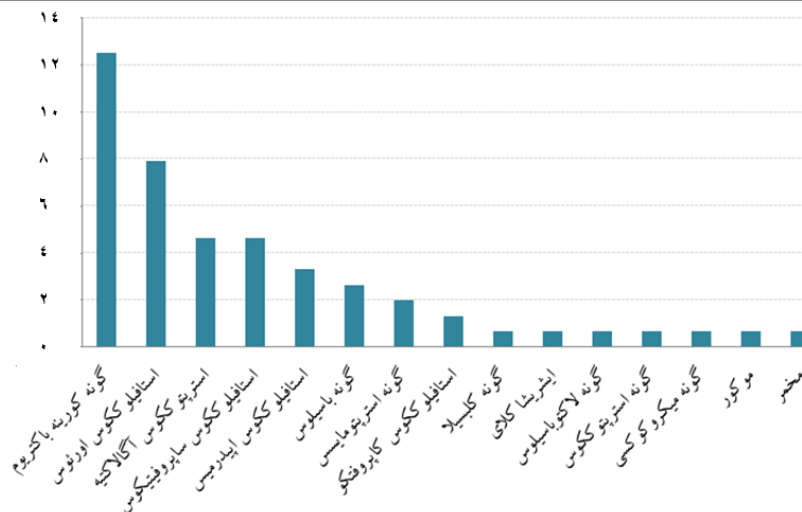
### یافته‌ها

پس از انجام آزمایش‌های باکتری‌شناسی روی ۱۰۰ نمونه شیر مأخوذه از گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی در آزمایشگاه تخصصی میکروبیولوژی، از ۶۶ مورد عوامل میکروبی ورم پستان جدا شد و در ۳۴ نمونه هیچ میکروارگانیسمی رشد نکرد. بیشترین باکتری جدا شده از نمونه‌های شیر آلوده کورینه باکتری بود که در ۱۸ مورد وجود داشت. به همین ترتیب در ۱۱ مورد استافیلوکوکوس اورئوس، ۷ مورد استرپتوکوکوس آگالاکتیه، ۷ مورد استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، ۵ مورد استافیلوکوکوس اپیدرمیس، ۴ مورد باسیلوس و ۳ مورد استرپتومایسس جدا شد. همچنین، ارگانیسم‌های

اشریشیا کلای، استرپتوکوک، لاکتوباسیل، کلبسیلا، میکروکوکسی، موکور و مخمر هر کدام از یک نمونه شیر آلوده جدا گردید. جزئیات مربوطه در نمودارهای ۱ و ۲ آورده شده است. ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها حاکی از آن بود که بیشترین حساسیت به ترتیب نسبت به جتتامایسین (۸۶/۸۸ درصد)، سفازولین (۶۸/۳۳ درصد)، نئومایسین (۶۰/۳۴ درصد) و سفتریاکسون (۵۷/۶۲ درصد) وجود داشت و تنها ۵ درصد و ۱۶/۳۹ درصد جدایه‌ها به ترتیب نسبت به پنی‌سیلین و استرپتومایسین حساس بودند. همچنین جدایه‌ها بیشترین مقاومت را در برابر پنی‌سیلین (۸۸/۳۳ درصد)، استرپتومایسین (۶۵/۵۸ درصد)، گلوکزاسیلین (۵۰ درصد)، کوتریموکسازول (۴۵ درصد) و تتراسایکلین (۴۰ درصد) نشان دادند.



نمودار ۱- فراوانی مطلق میکروارگانیسم‌های جدا شده از نمونه‌های شیر گاوان مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی



نمودار ۲- فراوانی نسبی میکروارگانیسم‌های جداشده از نمونه‌های شیر با کشت مثبت

## بحث و نتیجه‌گیری

ورم پستان، علاوه بر کاهش ترشح شیر، ترکیب آن را نیز تغییر می‌دهد (Souto *et al.*, 2010). این بیماری یکی از مهم‌ترین و پرهزینه‌ترین بیماری‌های گاوهای شیری در دنیا شناخته شده است (Hogeveen *et al.*, 2011; Holtenius *et al.*, 2004). ورم پستان تحت‌بالینی متداول‌ترین شکل ورم پستان است که بیشترین خسارت (در حدود ۸۰ درصد) را به صنعت دامپروری وارد می‌کند (Costa *et al.*, 2015; Losinger, 2005).

در بررسی حاضر از ۶۶ درصد نمونه‌های شیر مأخوذه از گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی (بر اساس آزمون CMT)، عوامل میکروبی ورم پستان جدا شدند. میکروب‌های جداشده از هر دو نوع باکتری‌های واگیردار و محیطی در بیماری ورم پستان تحت‌بالینی گاو بودند. بیشترین باکتری‌های جداشده شامل کورینه باکتری (۱۲/۵۴ درصد)، استافیلوکوکوس اورئوس (۷/۹۲ درصد)، استرپتوکوکوس آگالاکتیه (۴/۶۲ درصد)، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس (۴/۶۲ درصد)، مورد استافیلوکوکوس اپیدرمیس (۳/۳ درصد)،

باسیلوس (۲/۶۴ درصد) و استرپتومایسس (۱/۹۸ درصد) بودند. وجگانی و همکاران در سال ۱۳۸۷ با مطالعه نمونه‌های شیر تانک گاوداری‌های اطراف کرج و ورامین به روش PCR، میزان شیوع ورم پستان را ۶۳/۶ درصد گزارش کردند (Vojgani *et al.*, 2008). در مطالعه سالکی و مرادی در سال ۱۳۹۱ مشخص شد ۸۱/۲۵ درصد گاوهای به ظاهر سالم مورد مطالعه، مبتلا به آلودگی باکتریایی بودند (Saleki and Moradi, 2013). در مطالعه مذکور سه باکتری عامل ورم پستان جداشده به ترتیب از بیشترین به کمترین شامل: اشریشیا کلای (۵۵/۳ درصد)، کلبسیلا نومونیه (۴۲/۱ درصد) و استرپتوکوکوس آگالاکتیه (۲/۶ درصد) بودند. در مطالعه مسلمی‌پور و همکاران در سال ۱۳۹۵ میزان شیوع ورم پستان بالینی و تحت‌بالینی در گاوهای مورد مطالعه به ترتیب ۶/۸ و ۶۷/۵ درصد گزارش شد که استافیلوکوکوس اورئوس از تمام گاوهای گاوداری‌های سنتی و ۹۱/۶ درصد گاوهای گاوداری‌های صنعتی جدا شد (Moslemipur *et al.*, 2016). در یک مطالعه دیگر، فیروزی و همکاران در سال نشان دادند استافیلوکوکوس

(۵۰ درصد)، کوتریموکسازول (۴۵ درصد) و تتراسایکلین (۴۰ درصد) نشان دادند. این نتایج با یافته‌های مسافری و همکاران در سال ۲۰۱۵ هم‌خوانی داشت (Mosaferi et al., 2015). نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام در مطالعه مسلمی‌پور و همکاران در سال ۱۳۹۵ نشان داد که ۱۰۰ درصد باکتری‌های کشت‌شده از نمونه‌های شیر گاوهای مورد مطالعه، به آنتی‌بیوتیک کلرتراسیکلین مقاوم بودند. یافته‌های ایشان نشان داد که نیمی از کشت باکتری نمونه‌های گاوداری‌های صنعتی در مورد آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسیکلین مقاوم و نیم دیگر نیمه‌حساس بودند. نتایج مطالعه حاضر در مورد آنتی‌بیوتیک جنتامایسین نشان داد که اکثر نمونه‌ها به این آنتی‌بیوتیک حساس هستند. در این مطالعه ۵۰ درصد جدایه‌ها نسبت به گلوکزاسیلین مقاوم بودند. در حالی که در بررسی فرج‌پور و همکاران در سال ۱۳۹۴ مقاومت به اگزاسیلین تنها در ۳/۹۲ درصد از سویه‌ها دیده شد (Farajpour et al., 2015). این یافته در مقایسه با نتایج پژوهش‌های انجام‌شده در شمال اتیوپی (۶۰/۳ درصد) (Daka and Yihdego, 2012)، مطالعه انجام‌شده در تبریز (۱۰۰ درصد) (Mirzaei et al., 2012) و بررسی انجام‌شده در هند (۳/۷ درصد) (Nathawat et al., 2013) هم‌خوانی دارد و نسبت به نتایج مطالعه انجام‌شده در آفریقا (صفر درصد) (Shittu and Lin, 2006) متفاوت می‌باشد. در مطالعه هورشتی و همکاران در سال ۲۰۰۷ بین اثر درمانی آنتی‌بیوتیک‌های مختلف، تفاوت‌هایی مشاهده شد (Hovareshti et al., 2007). در بررسی دولاکیا و همکاران در سال ۱۹۸۷، جنتامایسین و کلرامفنیکل دارای بیشترین تاثیر (به ترتیب با ۶۱/۳ و ۵۹/۴ درصد)

اورئوس (۳۱/۵ درصد)، استرپتوکوکوس آگالاکتیه (۲۴/۱ درصد)، اشریشیا کلای (۱۸/۵ درصد)، استرپتوکوکوس دیس‌آگالاکتیه (۹/۳ درصد)، کورینه‌باکتریوم بویس (۹/۳ درصد)، استافیلوکوکوس اپیدرمیس (۳/۷ درصد) و سودوموناس آیروجینوزا (۳/۷ درصد) از عوامل اصلی ایجادکننده ورم پستان بالینی در واحدهای شیری اطراف شیراز می‌باشند (Firouzi et al., 2010).

مطالعه حاضر نشان داد که باکتری‌های جداشده از نمونه‌های شیر مأخوذه از گاوان مبتلا به ورم پستان تحت‌بالینی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف دارای حساسیت متفاوتی می‌باشند که این موضوع با سایر تحقیقات انجام شده در ایران و خارج از کشور هم‌خوانی دارد (Brinda et al., 2010; Getahun et al., 2008; Hashemi, 2015). این تنوع حساسیت جدایه‌های باکتریایی می‌تواند تا حدودی ناشی از اختلاف در میزان و نوع درمان‌های آنتی‌بیوتیکی در گاوداری‌ها باشد. گزارش شده که استفاده مکرر از آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان ورم پستان تحت‌بالینی باعث افزایش سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود (Pyorala and Vesa, 1995). در بررسی حاضر ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها حاکی از آن بود که بیشترین حساسیت نسبت به جنتامایسین (۸۶/۸۸ درصد)، سفازولین (۶۸/۳۳ درصد)، نئومایسین (۶۰/۳۴ درصد) و سفتریاکسون (۵۷/۶۲ درصد) وجود داشت و تنها ۵ درصد و ۱۶/۳۹ درصد جدایه‌ها به ترتیب نسبت به پنی‌سیلین و استرپتومایسین حساس بودند. همچنین، جدایه‌ها بیشترین مقاومت را در برابر پنی‌سیلین (۸۸/۳۳ درصد)، استرپتومایسین (۶۵/۵۸ درصد)، گلوکزاسیلین

جنتامایسین بالا بود که نشان از قدرت درمانی بالای آن برای ورم پستان‌های کنونی است که علت آن مصرف کمتر این آنتی‌بیوتیک در گاوداری‌هاست. از سوی دیگر استافیلوکوکوس‌ها شایع‌ترین باکتری جدا شده از موارد ورم پستان تحت‌بالینی در این مطالعه بودند (جمعاً ۱۷/۱۶ درصد). یکی از دلایل مقاومت گونه‌های استافیلوکوکوس به بتالاکتام‌ها می‌تواند ناشی از این واقعیت باشد که این دسته از باکتری‌ها تولید بتالاکتام‌ها را می‌کنند که حلقه بتالاکتام آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام را باز می‌کند (Persson *et al.*, 2011). یافته‌های مشابهی در مطالعات دیگر گزارش شده است (Farajpour *et al.*, 2015; Mirzaei *et al.*, 2012; Moslemipur *et al.*, 2013; Nathawat *et al.*, 2013; Thaker *et al.*, 2016). مطالعه پژوهشگران نشان داد هر دو نوع باکتری‌های واگیردار و محیطی در بیماری ورم پستان تحت‌بالینی گاوان شیری وجود دارند، به طوری که شایع‌ترین عامل باکتریایی جدا شده در این تحقیق کورینه باکتری‌ها بودند و استافیلوکوکوس اورئوس در مقام دوم قرار داشت (Abrahmsén *et al.*, 2014). با توجه به وجود تفاوت در نتایج مطالعات مشابه، می‌توان گفت در اثر شرایط آب و هوایی، نوع عامل ایجادکننده ورم پستان در گاوها تا حدی متفاوت است. همچنین، نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام حاکی از بروز مقاومت جدایه‌های باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پرمصرف مانند پنی‌سیلین، استرپتومایسین و تا حدی تتراسایکلین بود ولی حساسیت به جنتامایسین که کمتر مورد استفاده قرار گرفته، بالا بود.

و نئومایسین و آمپی‌سیلین در رده بعدی (۴۲ درصد) از لحاظ تاثیر بر عوامل مولد ورم پستان بودند (Dholakia *et al.*, 1987).

با توجه به نتایج بررسی‌های مختلف، میزان حساسیت و مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها، در مناطق و زمان‌های مختلف، متفاوت است که دلیل آن را می‌توان میزان و نحوه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و تنوع آن‌ها در نقاط مختلف دنیا برشمرد. یافته‌های این تحقیق نشان‌دهنده ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های پر استفاده مانند پنی‌سیلین، استرپتومایسین و تا حدی تتراسایکلین بود که مطالعات مشابه انجام یافته در ایران (Farajpour *et al.*, 2015; Mirzaei *et al.*, 2012; Nazer and Sarmadi, 2005)، نیز تقریباً بیانگر همین موضوع هستند. در بررسی‌های مورونی و همکاران در سال ۲۰۰۶ (Moroni *et al.*, 2006)، جنتیلینی و همکاران در سال ۲۰۰۲ (Gentilini *et al.*, 2002)، چاندا در سال ۱۹۸۹ (Chanda *et al.*, 1989) و ناظر و توکلی در سال ۱۹۹۴ (Nazer and Tavakoli, 1994) نیز مقاومت باکتری‌های جدا شده از ورم پستان در برابر پنی‌سیلین و در بررسی فیروزی و همکاران در سال ۱۳۸۹ (Firouzi *et al.*, 2010) و نیز مطالعه گوئرین-فابلی و همکاران در سال ۲۰۰۲ (Guérin-Faublée *et al.*, 2002) مقاومت در برابر تتراسایکلین گزارش شده است.

کاهش قدرت درمانی این آنتی‌بیوتیک‌ها نسبت به گذشته می‌تواند بدان علت باشد که به علت مصرف زیاد و مداوم این آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت در عوامل بیماری‌زای پستان به وجود آمده و تیپ‌هایی از عوامل بیماری‌زا که در مقابل این آنتی‌بیوتیک‌های پرمصرف مقاوم هستند، غالب شده‌اند. شاهد این مدعا این است که در مطالعه حاضر، حساسیت به آنتی‌بیوتیک

## سیاسگزاری

## تعارض منافع

از کلیه افراد، سازمان‌ها و ارگان‌هایی که در انجام این مطالعه همکاری داشته‌اند، صمیمانه قدردانی می‌گردد.

نویسندگان اعلام می‌دارند که در این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافی وجود ندارد.

## منابع

- Abrahmsén, M., Persson, Y., Kanyima, B.M. and Båge, R. (2014). Prevalence of subclinical mastitis in dairy farms in urban and peri-urban areas of Kampala, Uganda. *Tropical animal Health and Production*, 46(1): 99-105.
- Beaudeau, F., Ducrocq, V., Fourichon, C. and Seegers, H. (1995). Effect of disease on length of productive life of french Holstein dairy cows assessed by survival analysis. *Journal of Dairy Science*, 78(1): 103-117.
- Bolourchi, M., Mokhber, D.M., Kasravi, R., Moghimi, E.A. and Hovareshti, P. (2008). An estimation of national average of milk somatic cell count and production losses due to subclinical mastitis in commercial dairy herds in Iran. *Journal of Veterinary Research*, 63(4): 263-266.
- Bradley, A.J. (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *The Veterinary Journal*, 164(2): 116-128.
- Brînda, M., Herman, V. and Faur, B. (2010). Antimicrobial sensitivity of some *Staphylococcus aureus* strains from bovine mastitis. *Lucrări Științifice Medicină Veterinară*, 43(1): 102-105.
- Chanda, A., Roy, C., Banerjee, P. and Guha, C. (1989). Studies on incidence of bovine mastitis, its diagnosis, etiology and invitro sensitivity of the isolated pathogens. *Indian Veterinary Journal*, 66(4): 277-282.
- Costa, T.R., Menaldo, D.L., Da Silva, C.P., Sorrechia, R., De Albuquerque, S., Pietro, R.C., *et al.* (2015). Evaluating the microbicidal, antiparasitic and antitumor effects of Cr-Lao from *Calloselasma rhodostoma* venom. *International Journal of Biological Macromolecules*, 80: 489-497.
- Daka, D. and Yihdego, D. (2012). Antibiotic-resistance *Staphylococcus aureus* isolated from cow's milk in the Hawassa area, South Ethiopia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 11(1): 26.
- Dholakia, P., Purohit, J., Shah, N. and Kher, H. (1987). In vitro drug sensitivity of bacteria isolated from cases of mastitis in dairy-cattle. *Indian Veterinary Journal*, 64(11): 908-910.
- Farajpour, M., Sadeghi, Z.M. and Ghiamirad, M. (2015). Prevalence and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* in raw milks of Saqez. *Journal of Food Hygiene*, 5(3): 39-48. [In Persian]
- Firouzi, R., Rajaian, H., Tabaei, I. and Saeedzadeh, A. (2010). In vitro antibacterial effects of marbofloxacin on microorganisms causing mastitis in cows. *Journal of Veterinary Research*, 65(1): 51-55. [In Persian]
- Gentilini, E., Denamiel, G., Betancor, A., Rebuelto, M., Fermepin, M.R. and De Torres, R. (2002). Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. *Journal of Dairy Science*, 85(8): 1913-1917.
- Getahun, K., Kelay, B., Bekana, M. and Lobago, F. (2008). Bovine mastitis and antibiotic resistance patterns in selalle smallholder dairy farms, Central Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 40(4): 261-268.



- Guérin-Faublée, V., Tardy, F., Bouveron, C. and Carret, G. (2002). Antimicrobial susceptibility of streptococcus species isolated from clinical mastitis in dairy cows. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 19(3): 219-226.
- Hashemi, M. (2015). Prevalence of antibiotic resistance among bacterial pathogens isolated from dairy cows with mastitis in fars province. *Veterinary Journal (Pajouhesh and Sazandegi)*, 29(3): 85-93. [In Persian]
- Hogeveen, H., Huijps, K. and Lam, T. (2011). Economic aspects of mastitis: New Developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(1): 16-23.
- Holtenius, K., Waller, K.P., Essen-Gustavsson, B., Holtenius, P. and Sandgren, C.H. (2004). Metabolic parameters and blood leukocyte profiles in cows from herds with high or low mastitis incidence. *The Veterinary Journal*, 168(1): 65-73.
- Hovareshti, P., Bolourchi, M. and Tabatabayi, A. (2007). Comparison of the effect of systemic and local antibacterial therapy to control staphylococcal intramammary infection in prepartum heifers. *Journal of Veterinary Research*, 62: 7-9.
- Losinger, W.C. (2005). Economic impacts of reduced milk production associated with an increase in bulk-tank somatic cell count on US dairies. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(10): 1652-1658.
- Mirzaei, H., Farhoudi, H., Tavassoli, H., Farajli, M. and Monadi, A. (2012). Presence and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw and pasteurized milk and ice cream in Tabriz by culture and PCR techniques. *African Journal of Microbiology Research*, 6(32): 6224-6229.
- Moroni, P., Pisoni, G., Antonini, M., Villa, R., Boettcher, P. and Carli, S. (2006). Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Italy. *Journal of Dairy Science*, 89(8): 2973-2976.
- Mosafari, S., Ghabouli Mehrabani, R., Khakpoor, M., Ghabouli Mehrabani, N., Maleksabet, A. and Hamidi, F. (2015). Prevalence of bacterial agents isolated from clinical cases of bovine mastitis in the dry period and the determination of their antibiotic sensitivity in Tabriz, Iran. *Journal of Coastal Life Medicine*, 3(9): 701-703.
- Moslemipur, F., Mostafaloo, Y. and Khanahmadi, A. (2016). Survey of conformity between organoleptic and microbial culture techniques to diagnose cows mastitis and antibiogram test in milk of industrial and traditional herds. *Animal Science Research*, 26(1): 51-62. [In Persian]
- Nathawat, P., Bhati, T., Sharma, S.K., Mohammed, N. and Kataria, A.K. (2013). Prevalence of *Staphylococcus aureus* in lactating goats with clinical mastitis and their antibiogram studies. *Animal Biology and Animal Husbandry*, 5(1): 32-37.
- Nazer, A. and Sarmadi, R. (2005). Prevalence of clinical and subclinical mastitis, antibiotic resistance and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from cases of bovine mastitis. *Veterinary Research*, 60: 247-252. [In Persian]
- Nazer, A. and Tavakoli, A. (1994). Prevalence of antibiotic resistance and  $\beta$ -lactamase production by bacteria isolated from cases of bovine mastitis. *Journal of Applied Animal Research*, 6(2): 167-176.
- Nicholas, R. and Ayling, R. (2003). *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. *Research in Veterinary Science*, 74(2): 105-112.
- Philpot, W.N. and Nickerson, S.C. (2000). *Winning the Fight against Mastitis*. Westfalia, pp: 87-94.
- Phuektes, P., Mansell, P. and Browning, G. (2001). Multiplex polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcal* causes of bovine mastitis. *Journal of Dairy Science*, 84(5): 1140-1148.
- Saleki, K. and Moradi, H. (2013). Bacterial agents of mastitis in dairy cow farms in Ilam city. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 20(4): 88-95. [In Persian]

- 
- Shittu, A.O. and Lin, J. (2006). Antimicrobial susceptibility patterns and characterization of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in Kwazulu-Natal province, South Africa. *BMC Infectious Diseases*, 6(1): 125.
  - Souto, L.I., Minagawa, C.Y., Telles, E.O., Garbuglio, M.A., Amaku, M., Melville, P.A., *et al.* (2010). Correlation between mastitis occurrence and the count of microorganisms in bulk raw milk of bovine dairy herds in four selective culture media. *Journal of Dairy Research*, 77(1): 63-70.
  - Thaker, H., Brahmhatt, M., Nayak, J. and Thaker, H.C. (2013). Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from milk and milk products and their drug resistance patterns in Anand, Gujarat. *Veterinary World*, 6(1): 10-13.
  - Vojgani, M., Peyghambari, S. and Hakimi, H. (2008). Detection of common bacteria implicated in bovine mastitis in bulk tank milk by polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Research*, 63(1): 69-73. [In Persian]

## Evaluation of bacterial causes of subclinical mastitis in dairy cattle of Negine sabze Makoo agro-industrial and animal husbandry complex

Shokohi, M.<sup>1</sup>, Ahmadizadeh, Ch.<sup>2\*</sup>, Kaveh, A.<sup>3</sup>

1- Masters Student of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

\*Corresponding author's email: ch-ahmadizadeh@iau-ahar.ac.ir

(Received: 2017/8/27 Accepted: 2018/2/5)

### Abstract

Acute clinical mastitis resulting from udder infections and reduced resistance to pathogenic organisms is an important issue in cattle production. The aim of this study was to identify the causes of subclinical mastitis as a first step in prevention of hygienic and economic losses. Daily milk samples were collected every morning after milking and mixed with equal volume of mastitis test reagent and the mixture was rotated in a figure of 8 fashion for a few minutes. Presence of subclinical mastitis was confirmed by clotting of this mixture. The collected samples from each milking were sent to the microbiology laboratory alongside ice for bacterial culture and antibiotic susceptibility tests. Results indicated that the highest number of isolated bacteria consisted of *Corynebacteria* (12.54%), *Staphylococcus aureus* (7.92%), *Streptococcus agalactiae* (4.62%), *Staphylococcus saprophyticus* (4.62%), *Staphylococcus epidermis* (3.3%), *Bacillus* (2.64%) and *Streptomyces* (1.98%). Antibiotic susceptibility test revealed the greatest susceptibility to gentamicin and resistance to penicillin indicating the presence of resistance in isolated bacteria against commonly used antibiotics like penicillin, streptomycin and to some extent tetracycline but susceptibility towards the lesser used gentamicin was high.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Subclinical mastitis, Dairy cattle, Negine sabze Makoo agro-industrial and animal husbandry complex.