مقاله پژوهشی

JOAVM
Journal of
Alternative Veterinary Medicine
joavm.kazerun.iau.ir

Islamic Azad University
Kazerun Branch
Fars, Iran

جداسازی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی عوامل باکتریایی ورم پستان تحت بالینی در گاوهای شهر ماسال، گیلان

داریوش بهزادپور[1*]، رضا بی‌نیاز[2]، کاوه مدهوش[3]، بهزاد کاویانی[4]

[1]استادیار ، گروه دامپزشکی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
[2]کارشناس ارشد، گروه دامپزشکی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
[3]مدیر فنی آزمایشگاه سامانه پایش سلامت، رشت، ایران
[4]استاد، گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۴ اصلاح نهایی: ۱۴۰۳/۰۵/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۷

چکیده

زمینه و هدف: ورم پستان پرهزینه‌ترین بیماری تهدید کننده صنعت پرورش گاو می‌باشد. تشخیص زود هنگام موارد ورم پستان بالینی بهترین گزینه برای جلوگیری از ابتلا گاوها به ورم پستان است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی شیوع و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی عوامل باکتریایی ایجاد کننده ورم پستان تحت بالینی در گاوهای شیری ماسال بود.

مواد و روش‌ها: در مجموع، ۱۰۰ نمونه شیر خام از گاوداری‌های شهرستان ماسال جمع‌آوری شد. نمونه‌ها با استفاده از آزمون ورم پستان کالیفرنیایی مورد بررسی قرار گرفتند و امتیازدهی شدند. نمونه‌های مثبت جمع‌آوری شده در هر نوبت دوشش، در شرایط انجماد به آزمایشگاه منتقل شده و کشت میکروبی و آنتی‌بیوگرام روی آنها انجام گرفت. کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که شیوع ورم پستان تحت بالینی حدود ۶۷ درصد بود. توزیع شایع‌ترین باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های شیر عبارت بود از: *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) با ۲۶/۹ درصد، *اشرشیا کلی* (*Escherichia coli*) با ۱۶/۴ درصد، *استافیلوکوک کواگولاز* منفی (coagulase negative *Staphyllococci*) با ۱۰/۴ درصد، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* (*Streptococcus agalactiae*) با ۱۰/۴ درصد، *استرپتوکوکوس دیس‌آگالاکتیه* (*Streptococcus dysgalactiae*) با ۹ درصد و *انتروباکتر* (*Enterobacter*) با ۷/۵ درصد. همچنین، ۷۱/۴ درصد از ایزوله‌های *استافیلوکوک کواگولاز* منفی و ۶۶/۷ درصد از جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به پنی‌سیلین مقاوم بودند. به طور کلی، همه عوامل باکتریایی جدا شده از نمونه‌های مورد مطالعه به سیپروفلوکسازین حساس بودند.

نتیجه‌گیری: در مجموع، شیر تولید شده از گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی، میکروب‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک را به انسان منتقل می‌کند و منجر به شیوع میکروب‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در انسان می‌گردد. بنابراین، پیشگیری و درمان ورم پستان تحت بالینی در گاوها به مطالعه و توجه بیشتری نیاز دارد.

واژه های کلیدی: *ورم پستان، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، گاو، ماسال*

داریوش بهزادپور، رضا بی‌نیاز، کاوه مدهوش، بهزاد کاویانی. جداسازی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی عوامل باکتریایی ورم پستان تحت بالینی در گاوهای شهر ماسال، گیلان. مجله طب دامپزشکی جایگزین. ۱۴۰۳؛ ۷(۲۱): ۱۲۴۸-۱۲۶۹.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

* نویسنده مسئول: استادیار ، گروه دامپزشکی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.
Orcid: https://orcid.org/ 0000-0002-2630-7356 ،Email: dbehzadpour@gmail.com

مقدمه

شیر یک محیط غنی از مواد مغذی برای کشت و رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها است. *استافیلوکوکوس*، *لاکتوباسیلوس*، *میکروکوکوس* و *استرپتوکوکوس* جز فلور باکتریایی معمول شیر تازه هستند. علاوه بر این باکتری‌ها، گونه‌های سودوموناس نیز ممکن است از عوامل فساد میکروبی شیر باشند. در این میان باکتری سودوموناس فلورسنس از سایر گونه‌ها فراوان‌تر است. تعداد بسیاری از باکتری‌های میله‌ای گرمادوست قادر به تولید آنزیم‌های پروتئاز هستند، بنابراین آلودگی شیر به باسیل‌های گرمادوست اثر بسیار نامطلوبی بر کیفیت شیر می‌گذارد. این آنزیم‌ها منجر به هیدرولیز میسل‌های کازئین و بتالاکتوگلوبولین شده و آن‌ها را به پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه تبدیل می‌نمایند. در طول فرآیند پاستوریزه کردن شیر، این ترکیبات ایجاد لخته کرده و باعث کاهش کیفیت شیر می‌گردد (Hetzel *et al*., 2004).

در اصطلاح ورم پستان، ماستیت یا عفونت پستان، التهاب و تورم پستان در اثر عفونت تحت حاد، حاد یا مزمن می‌باشد. واژه ورم پستان به التهاب و تورم پستان بدون توجه به عوامل ایجاد کننده آن اطلاق می‌گردد. در دام‌ها، ورم پستان به واسطه تغییرات فیزیکی، شیمیایی و یا عوامل میکروبی شیر و تغییرات حاصل از بیماری در بافت پستان قابل مشاهده است. نفوذ عامل میکروبی و کاهش مقاومت گاو نسبت به عامل بیماری‌زای ورودی باعث بروز فرم بالینی ورم پستان می‌شود. عوارض ناشی از درگیری پستان با این عوامل، یکی از مهمترین مسائل بهداشتی در صنعت پرورش گاو شیری می‌باشد (Bradley *et al*., 2015).

نقص در اجرای اموری از قبیل عدم شستشوی سالن شیر دوشی، عدم رعایت اصول بهداشتی کارگران دامداری، عدم شستشو و ضدعفونی سرپستانک‌ها، عدم بازدید دوره‌ای گاوهای شیری جهت تشخیص سریع ورم پستان، عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های دقیق و کاربردی در درمان ورم پستان، عدم استفاده از تجهیزات و ماشین‌آلات شیردوشی و همچنین مکمل‌های دامی، عدم استفاده از فناوری‌های مدرن مانند مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی از مهم‌ترین عوامل بروز ورم پستان در گاوداری‌ها هستند. در یک مطالعه، مدل‌های پیش‌بینی ورم پستان بالینی توسعه داده شد، به طوری که فقط به وارد کردن شاخص‌های مشترک از سیستم شیر دوشی خودکار نیاز داشت (Luo *et al*., 2023). در این مطالعه از داده‌های چند بعدی به دست آمده از پایگاه داده ورم پستان گاوی شرکت فناوری کشاورزی Afimilk (چین) برای پیش‌بینی ورم پستان در گاوهای شیری استفاده شد. تمام داده‌ها برای روز صفر تا ۱۵۰ دوره شیردهی غربالگری شدند. داده‌ها شامل برابری، روز و دوره شیردهی، میانگین و انحراف معیار تولید شیر، هدایت الکتریکی و زمان خواب بود که به عنوان ویژگی‌های ورودی در نظر گرفته شد. طبقه‌بندی اینکه آیا گاوها از ورم پستان بالینی رنج می‌برند به عنوان خروجی تعیین گردید. تعداد ۴۲۶ گاو مبتلا به ورم پستان بالینی و ۲۰۸۷ گاو سالم تجزیه و تحلیل شدند. تشخیص زود هنگام و استفاده از فناوری های مدرن در ورم پستان بالینی بهترین گزینه برای جلوگیری از ابتلا گاوها به ورم پستان است (Luo *et al*., 2023).

ورم پستان پرهزینه‌ترین بیماری تهدید کننده صنعت پرورش گاو می‌باشد. مطالعه‌ای توصیفی-مقطعی به منظور شناسایی عوامل باکتریایی ایجاد کننده 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

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی، مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که *اشرشیا کلی* با ۱۸/۸ درصد و *استافیلوکوکوس‌های کواگولاز* مثبت با ۱۷/۹ درصد بیشترین نقش را در ابتلا به ورم پستان داشتند. جنتامایسین با ۸۳/۹۵ درصد حساسیت، مؤثرترین و پنی‌سیلین با ۱/۲۳ درصد کم اثرترین آنتی‌بیوتیک شناخته شدند. جدایه‌های *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس کواگولاز* منفی و *باسیلاسه* بیشترین حساسیت را به جنتامایسین و کمترین حساسیت را به پنی‌سیلین داشتند. کوتریموکسازول مؤثرترین و پنی‌سیلین کم اثرترین 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 (Esrafili *et al*., 2023).

در چندین مطالعه، روی درمان‌های جایگزین، از جمله عصاره‌های گیاهی، اسانس‌ها یا پپتیدها متمرکز شده‌اند. برخی از آثار کاربرد نانوتکنولوژی و پلیمرها در برابر باکتری‌های مرتبط با ورم پستان گاوی گزارش شده است. نتایج برخی تحقیقات نشان داد که تعدادی از جایگزین‌های گیاهی ممکن است روی باکتری‌های مرتبط با ورم پستان گاوی مؤثر باشند (Morales-Ubaldo *et al*., 2023). هر رویکردی مستلزم اقدامات پیشگیرانه و درمانی است (Panchal *et al*., 2024). ورم پستان یک بیماری چند عاملی است که همچنان شایع‌ترین و مبهم‌ترین بیماری گاوهای شیری در اکثر نقاط جهان است. این بیماری از نظر اقتصادی مهم‌ترین بیماری در صنایع لبنی است که حدود ۳۸ درصد از کل آسیب‌های مستقیم را به خود اختصاص می‌دهد (Qayyum *et al*., 2016; Das *et al*., 2018). ورم پستان را می‌توان به دو دسته بالینی یا تحت بالینی طبقه‌بندی کرد. ورم پستان بالینی با شروع ناگهانی، تغییر در رنگ و ترکیبات شیر (به علت مشاهده خون یا چرک همراه شیر)، کاهش تولید شیر و وجود درد و التهاب در پستان به عنوان نشانه اصلی ورم پستان عفونی مشخص می‌شود. در مقابل، ورم پستان تحت بالینی (Subclinical mastitis, SCM) شایع‌ترین شکل بروز ورم پستان در گاوهای شیری است که هیچ نشانه‌ای روی پستان یا شیر ندارد، اما تولید شیر، ترکیب و ارزش غذایی آن را کاهش می‌دهد و شیر تولید شده دارای تغییرات نامطلوب و کیفیت پایین بوده و جهت فرآوری نامناسب است (Bereda *et al*., 2018). ورم پستان بالینی اغلب به طور مستقیم با ارزیابی بصری التهاب پستان و تغییرات در خصوصیات شیر تشخیص داده می‌شود، اما SCM شکل پنهان ورم پستان در شیر است و تنها شاخص این نوع از التهاب پستان، افزایش تعداد سلول‌ها (Somatic cell count, SCC) است (Argaw, 2016). روش‌های مختلفی برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی استفاده می‌شود که عبارتند از: ارزیابی تغییرات فیزیکی و شیمیایی شیر و جداسازی میکروارگانیسم‌ها. تشخیص ورم پستان تحت بالینی از طریق اندازه‌گیری تعداد سلول‌های سوماتیک به طور مستقیم یا غیرمستقیم با انجام آزمون ورم پستان کالیفرنیایی (California mastitis test, CMT) در یک پستان مشکوک امکان‌پذیر است (Langer *et al*., 2014).

ورم پستان تحت بالینی شایع‌ترین بیماری در گاوهای شیری در سراسر جهان است، ۱۵ تا ۴۰ برابر شایع‌تر از ورم‌پستان بالینی و تصور می‌شود که بیشترین آسیب را به گله‌های گاو شیری وارد می‌نماید (Pandey *et al*., 2012; Kumari *et al*., 2018). شیوع ورم پستان تحت بالینی نیز مستقیما به میزان تولید شیر وابسته است و می‌تواند بلافاصله پس از

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

اقدامات مدیریتی غیربهداشتی و افزایش شیردهی افزایش یابد. بسیاری از عوامل خطر می‌توانند گاو را مستعد ابتلا به ورم پستان تحت بالینی نمایند که درک آن‌ها راهی مؤثر برای بهبود شیوه‌های مدیریتی و در نتیجه کاهش بروز ورم پستان تحت بالینی در گله‌های شیری محسوب می‌شود (Kumari *et al*., 2018).

عوامل خطر مستعدکننده بروز ورم پستان را می‌توان به دو دسته عوامل محیطی و عوامل میزبانی تقسیم کرد: عوامل محیطی مانند دما، رطوبت، فصل، ازدحام بیش از حد و تهویه ضعیف و عوامل میزبانی شامل سطح ایمنی گاو، نژاد دام، سن دام، میزان تولید شیر، مرحله شیردهی، سیستم ایمنی پستان، فاصله شیردوشی، تعداد سلول‌های سوماتیک شیر، دوره خشکی، آسیب‌های سرپستانک، مقاومت ژنتیکی و نوع پاتوژن آسیب‌رسان (نوع عامل بیماری‌زا و تعداد ارگانیسم‌ها) (Argaw, 2016).

Abed و همکاران (۲۰۲۱) در ارزیابی شیوع ورم پستان تحت بالینی در گله‌های گاو شیری و شناسایی پاتوژن‌های باکتریایی ایجادکننده آن در مصر نشان دادند که باکتری‌ها عامل ایجادکننده ۹۰/۴ درصد موارد ورم پستان تحت بالینی هستند. بر اساس نتایج حاصل از کشت باکتریایی، به ترتیب در ۲۶ درصد موارد یک عامل باکتریایی جدا گردید، در حالی‌که در ۶۴/۳ موارد چندین پاتوژن دخیل بودند. شایع‌ترین ایزوله‌های باکتریایی شناسایی شده در این مطالعه، *اشرشیا کلی* (۴۹/۸ درصد)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (۴۴/۹ درصد)، *استرپتوکوکوس* (۴۴/۱ درصد) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (۳۷/۱ درصد) بودند (Abed *et al.*, 2021).

یکی از دلایل مهم عدم موفقیت درمان ورم پستان، استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها بدون انجام آزمون حساسیت آنتی‌بیوگرام است. ظهور مقاومت ضد میکروبی در میان پاتوژن‌های مسبب بروز ورم پستان، پیامدهای اقتصادی شدیدی برای تولیدکنندگان شیر دارد، زیرا چنین شیری نمی‌تواند در بازار عرضه شود و همزمان دام‌های دیگر نیز به راحتی آلوده می‌شوند. هزینه درمان و کاهش میزان تولید شیر نیز باعث افزایش قابل‌توجه در میزان خسارات مالی صنعت لبنیات می‌شود (Anakalo *et al*., 2004).

از آن جایی که اطلاعاتی در رابطه با وضعیت بیماری ورم پستان تحت بالینی و مقاومت ضد میکروبی پاتوژن‌های مسبب آن در گله‌های گاو شیری شهرستان ماسال در دسترس نیست، مطالعه حاضر به برآورد شیوع بیماری در جمعیت دامی منطقه پرداخت، تا بتوان ضمن مقایسه شیوع بیماری در دو گروه سنی و دو دوره شیرواری در گاوهای صنعتی و سنتی موجود در این منطقه، بر مبنای اطلاعات حاصله از مقاومت ضد میکروبی پاتوژن‌های مسبب آن، به نحو بهتری جهت مبارزه با بیماری مذکور و ارتقاء سطح بهداشت و سلامت جمعیت دامی برنامه‌ریزی کرد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر، یک مطالعه مقطعی (توصیفی- تحلیلی) بود که به مدت ۶ ماه از فروردین ماه سال ۱۴۰۱ تا شهریور سال ۱۴۰۱ در دامداری‌های شهرستان ماسال انجام شد. در این پژوهش، برای ردیابی و پایش دقیق بیماری در جمعیت گاوهای شیری منطقه، ابتدا واحدهای اپیدمیولوژیک دارای گاو شیری، فهرست شدند. پس از انتخاب واحدهای اپیدمیولوژیکی، بر اساس تراکم جمعیت موجود در هر واحد، سهمیه نمونه‌گیری از واحدهای اپیدمیولوژیک منتخب تعیین گردید.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

نمونه‌برداری اولیه

در مجموع، ۱۰۰ نمونه شیر خام از دامداری‌های صنعتی و سنتی شهرستان ماسال جمع‌آوری گردید. تعداد ۳۸ نمونه از دو گاوداری صنعتی به طور تصادفی انتخاب گردید و ۶۲ نمونه دیگر، از ۱۸ واحد گاوداری سنتی تهیه شد. از هر واحد گاوداری سنتی بسته به تراکم، ۲ تا ۵ راس گاو تحت نمونه‌برداری قرار گرفتند. نمونه‌گیری به طور همزمان در دوشش صبح، از گاوهای شیری واحدهای منتخب انجام شد و اطلاعات مربوط به نوع واحد، گروه سنی (دو گروه زیر ۴ سال و بالای ۴ سال) و دوره شیرواری (طول دوره شیرواری از روز ۵ تا ۳۰۵ به دو گروه مساوی ۱۵۰ روزه تقسیم گردید) ثبت گردید. آزمایش ورم پستان کالیفرنیایی برای شناسایی گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی انجام شد. پس از ورود دام به سالن شیردوشی، به منظور تهیه نمونه شیر، ابتدا کارتیه‌ها با آب ولرم شسته شدند تا از نظر آلودگی‌های مدفوعی و آلودگی‌های بستر پاک شوند. به دلیل احتمال آلودگی محیطی، از سه دوشش اول هر کارتیه به منظور مشاهده کیفیت شیر استفاده و تست کالیفرنیایی انجام شد و اطلاعات مشاهده شده، ثبت گردید.

آزمایش CMT

در حدود ۲ میلی‌لیتر از شیرهای دوشیده شده در فنجانک‌های مخصوص آزمون CMT (کالیفرنیایی) ریخته شد. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول شیرآزما به عنوان معرف تست CMT به شیر اضافه شد. در مرحله بعد، محلول حاوی شیر و معرف به مدت چند ثانیه با حرکات دورانی مخلوط شدند. نتیجه آزمون در حالی که چرخش هنوز ادامه دارد، یعنی در عرض حدود ۱۰ ثانیه بایستی مورد مشاهده قرار گیرد. لخته شدن مخلوط شیر و معرف، نشان‌دهنده وجود ورم پستان تحت بالینی است. نتایج آزمایش CMT برای هر گاو تحت مطالعه با ذکر کارتیه درگیر ثبت شد.

نمونه‌برداری ثانویه

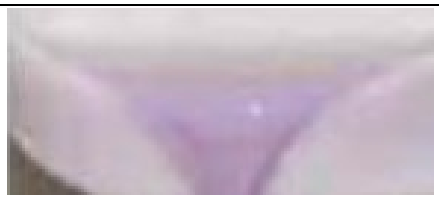
پس از تأئید ابتلای گاو به ورم پستان تحت بالینی و اطمینان از عدم ابتلای گاو به فرم حاد و بالینی ورم پستان (عدم وجود علایمی همانند تب، بی‌اشتهایی، درد، سفتی و پرخونی پستان یا تغییر کیفیت و رنگ شیر)، کارتیه‌های دام مزبور با پنبه و الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شدند و با رعایت نکات بهداشتی، مقداری شیر در داخل ظروف استریل نمونه‌برداری دوشیده شد. در هنگام نمونه‌برداری، ظروف استریل با زاویه ۴۵ درجه نسبت به کارتیه قرار گرفت تا از ورود گرد و خاک و یا سایر عوامل موجود روی پستان به داخل نمونه جلوگیری شود. نمونه‌های مثبت CMT جمع‌آوری شدند و با رعایت زنجیره سرد جهت انجام کشت میکروبی و آزمون آنتی‌بیوگرام به آزمایشگاه منتقل گردید. برای تفسیر نتایج این آزمون از جدول ۱ استفاده شد.

کشت میکروبی

نمونه‌هایی که تست کالیفرنیایی آنها مثبت بود، برای تعیین نوع باکتری کشت داده شدند. به این منظور، ۲ میلی‌لیتر از نمونه شیر در شرایط استریل داخل لوله آزمایش منتقل گردید و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۶۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از رسوب به دست آمده توسط یک لوپ استاندارد استریل در کنار شعله روی محیط‌های بلاد آگار (Blood Agar) و براث (BHI) کشت خطی چهار قسمتی داده شد. در مرحله بعد، محیط‌های کشت در شرایط هوازی در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت از لحاظ رشد میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

سپس بار دیگر از کلنی‌های غالب، در محیط BHI خالص‌سازی انجام شد. از کلنی‌های خالص، لام میکروبی تهیه شد و پس از رنگ‌آمیزی گرم، شکل و نوع باکتری مورد شناسایی قرار گرفت. کلنی‌های خالص رشد یافته، از نظر خصوصیات همولیز، آزمون‌های اکسیداز، کاتالاز و کوآگولاز مورد بررسی قرار گرفتند. در صورت لزوم از آزمون‌های بیوشیمیایی (آزمون اندول، آزمون متیل رد، آزمون حرکت و آزمون H_2S) برای تشخیص افتراقی استفاده شد. سپس با توجه به کلیه نتایج رنگ‌آمیزی، مورفولوژی و تست‌های بیوشیمیایی، جنس باکتری‌ها تشخیص داده شد.

توصیف واکنش	نمره	تفسیر	شکل محلول حاصل از مخلوط معرف و شیر
محلول معرف و شیر به صورت مایع باقی می‌مانند، بدون تشکیل ژل، می‌تواند به خوبی از داخل فنجانک چکه کند.	منفی	سالم	
مخلوط لزج یا ژل‌مانند است. بهترین توصیف آن با چرخاندن فنجانک به صورت دورانی، مخلوط روی کف فنجان می‌لغزد.	+۱	ورم پستان: ضعیف	
مخلوط به طور مشخص ژله مانند شده است.	+۲	ورم پستان: متوسط	
محلول حاوی شیر و معرف بلافاصله غلیظ می‌شوند و تشکیل ژله می‌دهند. با چرخاندن فنجانک، مخلوط به سمت مرکز حرکت می‌کند و از لبه‌ها فاصله می‌گیرد.	+۳	ورم پستان: شدید	

جدول ۱. تفسیر نتایج تست CMT.

شناسایی سوش‌های باکتریایی

به طور معمول مبنای جداسازی سوش‌های باکتریایی جدا شده، معیارهای مورفولوژی کلنی، مورفولوژی میکروسکوپی، رنگ‌آمیزی گرم و واکنش‌های بیوشیمیایی می‌باشد. درصورت رشد هر گونه پرگنه در محیط‌های مربوطه یک نمونه از آن برداشته شده و با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم مورد

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

بررسی بیشتر قرار گرفت. در صورت مشاهده کوکسی‌های گرم مثبت، مقداری از پرگنه برداشته شد و مجددا در محیط بلاد آگار کشت داده شد. برای افتراق *استرپتوکوکوس‌ها* و *استافیلوکوکوس‌ها* از آزمون کاتالاز و برای تشخیص گونه‌های *استرپتوکوکوس*، از محیط کشت اسکولین آگار و آزمون کمپ و هیپورات استفاده گردید. جهت تشخیص گونه‌های *استافیلوکوکوس*، از محیط مانیتول سالت آگار استفاده شد. در صورت مشاهده کوکوباسیل‌های گرم مثبت، باتوجه به احتمال کورینه باکتریوم از آزمون‌های کاتالاز و مطالعه ظاهری پرگنه‌های با ظاهر سفید-خاکستری، خشک و عدم تشکیل همولیز، از محیط خون‌دار استفاده شد. کورینه باکتریوم‌ها، باسیل‌های کوتاه با اشکال کروی تا بیضوی هستند. در صورت مشاهده باسیل‌های گرم منفی، از پرگنه یک نمونه برداشته و در محیط مک‌کانکی آگار کشت داده شد و به دو دسته لاکتوز مثبت و لاکتوز منفی تقسیم گردید.

باکتری‌های *کلی‌فرم* به دلیل استفاده از لاکتوز، پرگنه‌هایی صورتی تا قرمز رنگ به وجود می‌آورند. *کلی‌فرم‌ها* باکتری‌هایی هستند که معمولا به عنوان شاخص کیفیت بهداشتی بودن غذاها و آب مورد استفاده قرار می‌گیرد. *کلی‌فرم‌ها* به دو دسته؛ *کلی‌فرم‌های* مدفوعی و *کلی‌فرم‌های* غیر مدفوعی تقسیم می‌شوند. آن‌ها باسیل شکل، گرم منفی، بدون آندوسپور و قادر به حرکت یا باکتری‌های غیر متحرک هستند که هنگام قرار گرفتن در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد با تولید اسید و گاز، قند لاکتوز را تخمیر می‌کنند. *اشرشیا کلی* عضو میله‌ای شکل گروه *کلی‌فرم* از روی رشد و تغییر رنگ در محیط‌های کشت معین و توانایی تخمیر لاکتوز در دمای ۴۴ درجه سانتی‌گراد در آزمایش‌های انجام گرفته روی *کلی‌فرم* مدفوعی از بیشتر انواع دیگر *کلی‌فرم* متمایز می‌شود. این باکتری هنگام کشت در پلیت ائوزین متیلن بلو، تولید کلنی بنفش تیره و سایه‌ای از رنگ سبز متالیک می‌کند. دوره نهفتگی *اشرشیا کلی* بین ۱۲ تا ۷۲ ساعت هنگام بودن در دمای رشد بهینه بین ۳۰ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد است. سرمنشأ اصلی *اشرشیا کلی* مدفوع است و حضور آن نشان‌دهنده آلودگی مدفوع است. روشی ساده برای تمایز بین انواع مختلف باکتری‌های *کلی‌فرم* استفاده از پلیت ائوزین متیلن بلو آگار است. این پلیت تا اندازه‌ای مانع از رشد باکتری‌های گرم مثبت می‌شود و بر اساس توانایی تخمیر لاکتوز، تغییر رنگی را در کلونی باکتری‌های گرم منفی تولید می‌کند. تخمیر کننده‌های قوی لاکتوز، به رنگ آبی، بنفش یا سیاه تیره ظاهر می‌شوند و کلنی‌های *اشرشیا کلی* (که آن‌ها هم لاکتوز را تخمیر می‌کنند)، به رنگ تیره هستند، اما آن‌ها دارای جلای فلزی سبز رنگ نیز می‌باشند. دیگر باکتری‌های *کلی‌فرم* به صورت کلنی‌های ضخیم و لزج ظاهر می‌شوند و غیرت خمیر کننده‌ها بی‌رنگ و تخمیرکننده‌های ضعیف لاکتوز، رنگ صورتی دارند.

آزمون آنتی‌بیوگرام

میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با روش انتشار دیسک (دیسک دیفیوژن) مورد ارزیابی قرار گرفت. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی شامل؛ انروفلوکساسین، سولتریم، لینکومایسین، لینکواسپکتین، آموکسی‌سیلین، تایلوزین، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد بین المللی)، استرپتومایسین، سفتیوفور (اکسنل)، تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۱۰ میکروگرم) است که با استفاده از آن‌ها آزمون آنتی‌بیوگرام انجام می‌شود. همه دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی از شرکت پادتن طب تهیه گردید. از استاندارد نیم مک‌فارلند

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

برای مطابقت دادن سوسپانسیون‌های میکروبی استفاده گردید تا سوسپانسیون ضد میکروبی با تراکم مناسب تهیه شود. کلنی باکتری تازه کشت شده (۱۶ تا ۲۴ ساعته) برداشته شد و در سرم فیزیولوژی استریل حل گردید. پس از تهیه محلول هموژن، با سواب استریل، به محیط کشت مولر هینتون آگار انتقال داده شد و به طور کامل به وسیله سواب روی محیط یکنواخت کشت شد. بعد از کشت، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی بالا در فواصل معین ۲/۵ سانتی‌متر از هم روی محیط مولر هینتون آگار قرار داده شد (در هر پلیت ۷ دیسک). پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و بعد از ۲۴-۱۸ ساعت زیر نور چراغ، بررسی گردیدند و قطر هاله عدم رشد با خط‌کش اندازه‌گیری شد. در نهایت، با توجه به قطر هاله و استانداردهای CLSI، گزارش آزمون آنتی‌بیوگرام برای هر یک از آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت حساس یا مقاوم بیان شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از این مطالعه به صورت فراوانی مطلق و فراوانی نسبی توصیف شد. داده‌های حاصل از عوامل باکتریایی استخراج شده از نمونه‌های شیر با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ مورد آنالیز آماری قرار گرفت. برای مقایسه نسبت آلودگی در واحدهای صنعتی و سنتی در دو گروه سنی (زیر ۵ سال و بالای ۵ سال) و دو دوره شیرواری (نیمه اول و نیمه دوم دوره شیرواری)، از آزمون مربع کای استفاده شد. سطح معناداری نیز کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی دامداری‌های آلوده به ورم پستان تحت بالینی و آزمون غربالگری ورم پستان کالیفرنیایی روی ۱۰۰ گاو (هر چهار کارتیه پستان گاوها) انجام شد. ۳۸ راس (۳۸ درصد) از گاوهای منتخب از واحدهای صنعتی و ۶۲ راس (۶۲ درصد) از واحدهای سنتی انتخاب شدند. ۳۹ راس از گاوهای منتخب در دوره شیرواری اول و ۶۱ راس در دوره شیرواری دوم بودند. ۴۹ راس از گاوهای انتخاب شده در گروه سنی زیر ۴ سال و ۵۱ راس در گروه سنی بالای ۴ سال بودند. بر اساس آزمون غربالگری، تعداد ۶۷ نمونه مثبت به‌دست آمد و شیوع بیماری ۶۷ درصد ارزیابی شد. از مجموع ۴۰۰ کارتیه مورد مطالعه، ۳ کارتیه مسدود بودند، بنابراین از مطالعه خارج شدند. نمونه‌های داخل سطل، حاصل از دوشش ۴ کارتیه هر گاو مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت نمونه شیر مربوط به ۶۷ رأس گاو مبتلا به ورم پستان، جهت انجام کشت استفاده شد. از تعداد ۶۷ نمونه اخذ شده از مبتلایان به ورم پستان، سه مورد (۴/۵ درصد) به دلیل امکان بروز آلودگی محیطی هنگام نمونه‌گیری و جلوگیری از ایجاد پاسخ اشتباه حذف گردیدند و ۶۴ نمونه تحت کشت و بررسی قرار گرفتند. در ۱۰ مورد (۱۴/۹ درصد) از نمونه‌های تحت مطالعه، هیچ میکروارگانیسمی رشد نکرد و در ۵۴ مورد میکروارگانیسم‌ها شناسایی و جدا گردیدند. میزان حساسیت آزمون غربالگری CMT، ۸۰/۶ درصد (۵۴ مورد از ۶۷ مورد) به دست آمد. بیشترین باکتری‌های جدا شده از نمونه شیرهای آلوده، *استافیلوکوک‌ها* بودند که در ۲۵ مورد از ۶۷ مورد تحت مطالعه (۳۷/۳ درصد) مشاهده شدند. این باکتری‌ها؛ *استافیلوکوکوس اورئوس*: ۱۸ مورد (۲۶/۹ درصد) و *استافیلوکوک‌های کوآگولاز* منفی: ۷ مورد (۱۰/۴ درصد) بودند. به این ترتیب از مجموع *استافیلوکوک‌های* جدا شده، ۱۸ مورد کوآگولاز مثبت و ۷ مورد کواگولاز منفی بودند. به همین ترتیب، در ۶ مورد *استرپتوکوکوس دیس‌آگالاکتیه* (۹ درصد)، ۷ مورد *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* (۱۰/۴ درصد)،

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

نام باکتری جدا شده	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی (درصد)
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۸	۲۶/۹
استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی	۷	۱۰/۴
استرپتوکوکوس دیس‌آگالاکتیه	۶	۹
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۷	۱۰/۴
اشرشیا کلی	۱۱	۱۶/۴
انتروباکتر	۵	۷/۵
آلودگی متقاطع	۳	۴/۵
عدم رشد باکتری (کشت منفی)	۱۰	۱۴/۹
جمع	۶۷	۱۰۰

جدول ۲. نام باکتری‌های جدا شده و فراوانی مطلق و نسبی آنها در کشت میکروبی.

۱۱ مورد *اشرشیا کلی* (۱۶/۴ درصد) و ۵ مورد *انتروباکتر* (۷/۵ درصد) جدا گردید (جدول ۲).

تعداد ۶ جنس باکتری جدا شده، از نظر حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بررسی شدند. از این تعداد، ۴ مورد گرم مثبت و شامل *استافیلوکوک* و *استرپتوکوک‌ها* و ۲ مورد گرم منفی و شامل *اشرشیا کلی* و *انتروباکتر* بودند که حساسیت آن‌ها به چند نوع آنتی‌بیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. *استافیلوکوکوس اورئوس* بالاترین مقاومت (۶۶/۷ درصد) را در برابر دو آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین داشت. از طرف دیگر، پائین‌ترین مقاومت (۱۱/۱ درصد) را نیز در برابر سیپروفلوکساسین از خود نشان داد. مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس* در برابر آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین، جنتامایسین و لینکومایسین برابر (۵۵/۵ درصد) بود (جدول ۳ و شکل ۱). الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مورد *استافیلوکوک‌های کوآگولاز* منفی به قرار داده‌های ارائه شده در جدول ۳ و شکل ۲ است. بالاترین مقاومت این باکتری (۷۱/۴ درصد) در برابر پنی‌سیلین بود. مقاومت در برابر آمپی‌سیلین و استرپتومایسین به ترتیب برابر ۵۷/۱۵ و ۴۲/۸۵ درصد بود. *استافیلوکوک‌های کوآگولاز* منفی مقاومتی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکسازین، سیپروفلوکساسین، سولتریم و سفیتوفور نداشتند. در مورد باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی*، جدول ۳ نشان می‌دهد که آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و سولتریم هیچ اثری روی این باکتری ندارند و درصد بقای آنها ۱۰۰ درصد بود. از طرف دیگر، این باکتری مقاومتی در برابر ۴ آنتی‌بیوتیک یعنی پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، سیپروفلوکساسین و سفتیوفور نداشت. مقاومت *اشرشیا کلی* در برابر آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، تایلوزین و لینکومایسین بالای ۵۰ درصد بود (جدول ۳ و شکل ۳). الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی انتروباکتر طوری بود که این باکتری مقاومت ۶۰ درصدی را در برابر آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین، تایلوزین و جنتامایسین نشان داد. این باکتری مقاومتی در برابر آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، استرپتومایسین، آمپی‌سیلین، انروفلوکسازین، سیپروفلوکساسین، لینکومایسین و سفیتوفور نداشت (جدول ۳ و شکل ۴). نتایج حاصل از آزمون آنتی‌بیوگرام حساسیت باکتری‌های جداشده از نمونه‌های مورد بررسی به آنتی‌بیوتیک‌ها در جدول ۴ آورده شده است.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

استافیلوکوکوس اورئوس

آنتی‌بیوتیک	پنی‌سیلین	استرپتومایسین	تتراسایکلین	تایلوزین	آمپی‌سیلین	انروفلوکسازین	جنتامایسین	آموکسی‌سیلین	سیپروفلوکساسین	لینکومایسین	لینکواسپکتین	سولتریم	سفتیوفور
مقاومت به آنتی‌بیوتیک (درصد)	۶۶/۷	۵۵/۵	۳۳/۳	۱۶/۷	۶۶/۷	۱۶/۷	۵۵/۵	۱۶/۷	۱۱/۱	۵۵/۵	۳۳/۳	۱۶/۷	۱۶/۷

استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی

آنتی‌بیوتیک	پنی‌سیلین	استرپتومایسین	تتراسایکلین	تایلوزین	آمپی‌سیلین	انروفلوکسازین	جنتامایسین	آموکسی‌سیلین	سیپروفلوکساسین	لینکومایسین	لینکواسپکتین	سولتریم	سفتیوفور
مقاومت به آنتی‌بیوتیک (درصد)	۷۱/۴	۴۲/۸۵	۲۸/۶	۱۴/۳	۵۷/۱۵	۰	۱۴/۳	۲۸/۶	۰	۲۸/۶	۱۴/۳	۰	۰

اشرشیا کلی

آنتی‌بیوتیک	پنی‌سیلین	استرپتومایسین	تتراسایکلین	تایلوزین	آمپی‌سیلین	انروفلوکسازین	جنتامایسین	آموکسی‌سیلین	سیپروفلوکساسین	لینکومایسین	لینکواسپکتین	سولتریم	سفتیوفور
مقاومت به آنتی‌بیوتیک (درصد)	۰	۱۸/۲	۵۴/۵	۵۴/۵	۰	۱۸/۲	۱۰۰	۱۸/۲	۰	۵۴/۵	۴۵/۵	۱۰۰	۰

انتروباکتر

آنتی‌بیوتیک	پنی‌سیلین	استرپتومایسین	تتراسایکلین	تایلوزین	آمپی‌سیلین	انروفلوکسازین	جنتامایسین	آموکسی‌سیلین	سیپروفلوکساسین	لینکومایسین	لینکواسپکتین	سولتریم	سفتیوفور
مقاومت به آنتی‌بیوتیک (درصد)	۰	۰	۶۰	۶۰	۰	۰	۶۰	۲۰	۰	۴۰	۰	۴۰	۰

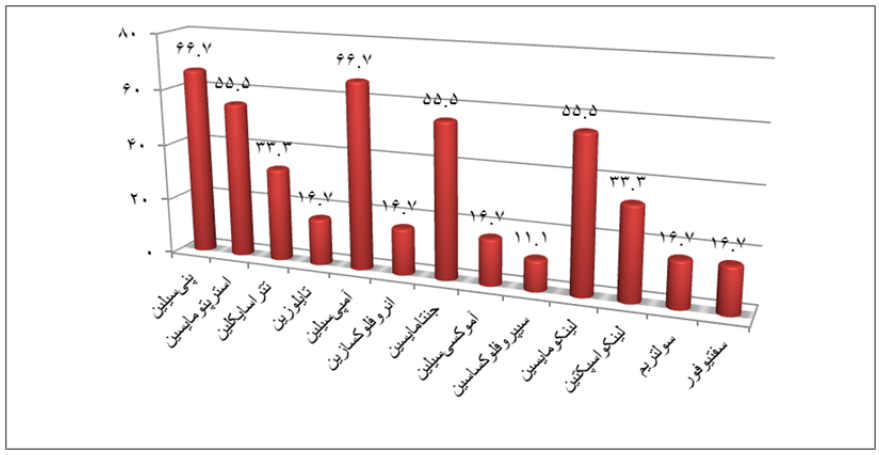
جدول ۳. الگوی مقاومت *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوک‌های کوآگولاز* منفی، *اشرشیا کلی* و *انتروباکتر* به چند نوع آنتی‌بیوتیک.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

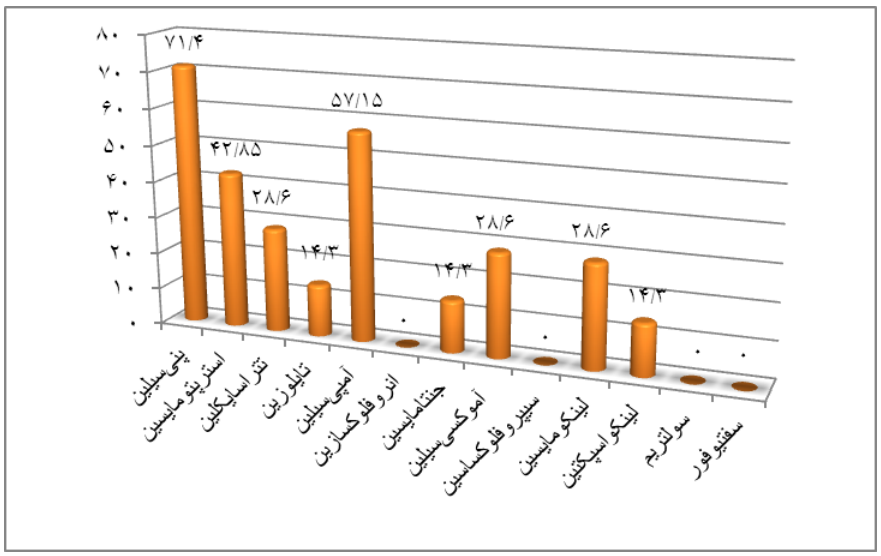
باکتری	*استافیلوکوکوس اورئوس*		*استافیلوکوکوس کوآگولاز منفی*		*استرپتوکوکوس (هر دو جنس)*		*انتروباکتر*		*اشرشیا کلی*	
آنتی‌بیوتیک	حساسیت (تعداد)	حساسیت (درصد)	حساسیت (تعداد)	حساسیت (درصد)	حساسیت (تعداد)	حساسیت (درصد)	حساسیت (تعداد)	حساسیت (درصد)	حساسیت (تعداد)	حساسیت (درصد)
پنی‌سیلین	۶/۱۸	۳۳/۳	۲/۷	۲۸/۶	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۱۱/۱۱	۱۰۰
استرپتومایسین	۸/۱۸	۴۴/۵	۴/۷	۵۷/۱۵	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۹/۱۱	۸۱/۸
تتراسایکلین	۱۲/۱۸	۶۶/۷	۵/۷	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۱۰۰	۲/۵	۴۰	۵/۱۱	۴۵/۴
تایلوزین	۱۵/۱۸	۸۳/۳	۶/۷	۸۵/۷	۱۳/۱۳	۱۰۰	۲/۵	۴۰	۵/۱۱	۴۵/۴
آمپی‌سیلین	۶/۱۸	۳۳/۳	۳/۷	۴۲/۸۵	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۱۱/۱۱	۱۰۰
انروفلوکسازین	۱۵/۱۸	۸۳/۳	۷/۷	۱۰۰	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۹/۱۱	۸۱/۸
جنتامایسین	۸/۱۸	۴۴/۵	۶/۷	۸۵/۷	۱۳/۱۳	۱۰۰	۲/۵	۴۰	۰/۱۱	۰
آموکسی‌سیلین	۱۵/۱۸	۸۳/۳	۵/۷	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۱۰۰	۴/۵	۸۰	۹/۱۱	۸۱/۸
سیپروفلوکساسین	۱۶/۱۸	۸۸/۹	۷/۷	۱۰۰	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۱۱/۱۱	۱۰۰
لینکومایسین	۸/۱۸	۴۴/۵	۵/۷	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۱۰۰	۳/۵	۶۰	۵/۱۱	۴۵/۴
لینکواسپکتین	۱۲/۱۸	۶۶/۷	۶/۷	۸۵/۷	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۶/۱۱	۵۴/۵
سولتریم	۱۵/۱۸	۸۳/۳	۷/۷	۱۰۰	۱۳/۱۳	۱۰۰	۳/۵	۶۰	۰/۱۱	۰
سفتیوفور	۱۵/۱۸	۸۳/۳	۷/۷	۱۰۰	۱۳/۱۳	۱۰۰	۴/۴	۱۰۰	۱۱/۱۱	۱۰۰

جدول ٤. نتایج حاصل از آزمون آنتی‌بیوگرام حساسیت باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های مورد بررسی به آنتی‌بیوتیک‌ها.

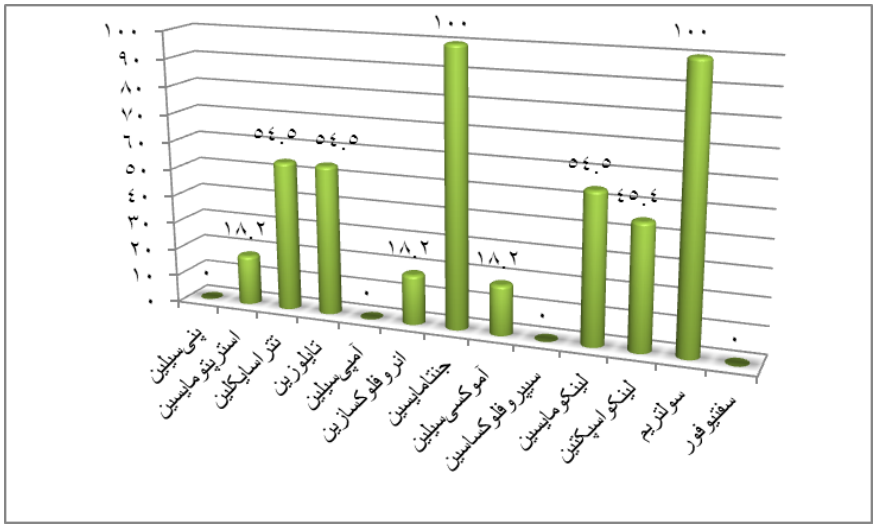
[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]



شکل ۱. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوکوس اورئوس*.

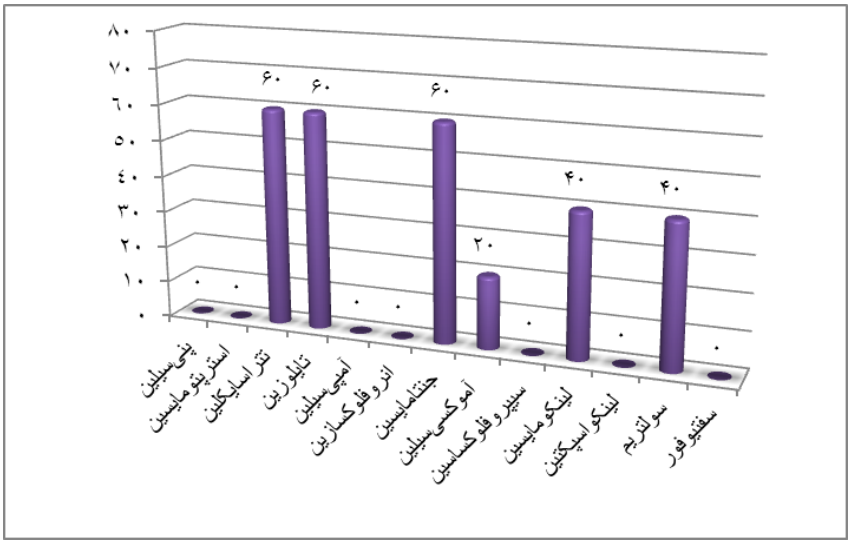


شکل ۲. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *استافیلوکوک‌های کوآگولاز* منفی.



شکل ۳. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *اشرشیا کلی*.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]



شکل ٤. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی *انتروباکتر*.

بحث

هدف از مطالعه حاضر، شناسایی عوامل شایع در بروز ورم پستان تحت بالینی در گاوداری‌های شهرستان ماسال و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی این عوامل می‌باشد. به این منظور از آزمون ورم پستان کالیفرنیایی برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی استفاده شد، زیرا کاربردی، ارزان و آسان است. در نتیجه اضافه‌کردن محلول شیرآزما به شیر، DNA سلول‌های سوماتیک شیر (اسید) با محلول (قلیا) واکنش داده و ژل تشکیل شد که تشکیل ژل نشان‌دهنده بروز ورم پستان تحت بالینی است. قوام این ژل به تعداد کل سلول‌های سوماتیک بستگی دارد. نتایج واکنش CMT با افزایش تعداد کلی سلول‌های سوماتیک در شیر، افزایش می‌یابد (از منفی به ۱+، ۲+ و ۳+) (Harjanti & Sambodo, 2020). در این مطالعه، ۶۷ راس گاو از ۱۰۰ راس گاو تحت مطالعه (۶۷ درصد) مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بودند. Vojgani و همکاران (۲۰۰۸) با مطالعه نمونه‌های شیر تانک دامداری‌های گاو شیری اطراف کرج و ورامین با استفاده از روش PCR، میزان شیوع ورم پستان تحت بالینی را در این منطقه ۶۳/۶ درصد گزارش کردند (Vojgani *et al*., 2008). Saleki و Moradi (۲۰۱۳) طی مطالعه‌ای نشان دادند که ۸۱/۲۵ درصد از گاوهای سالم از نظر بالینی، مبتلا به ورم پستان تحت بالینی هستند (Saleki & Moradi, 2013). نتایج حاصل از این مطالعات تا حدودی زیادی با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت دارد. علل تفاوت‌های جزیی را می‌توان به تفاوت در حساسیت آزمایشات تشخیصی و شرایط نگهداری دام‌ها نسبت داد. مطالعات گذشته نشان داده است که تست PCR برای تشخیص میکروارگانیسم‌های دخیل در ورم پستان تحت بالینی حساس‌تر و اختصاصی‌تر از روش کشت معمولی است (Shahzad *et al*., 2013).

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، در ۲۵ مورد (۳۷/۳ درصد) از موارد ورم پستان‌های تحت بالینی در گاوداری‌های مورد مطالعه، باکتری‌های خانواده *استافیلوکوک*، در ۱۳ مورد (۱۹/۴ درصد)، باکتری‌های خانواده *استرپتوکوک* و در ۱۶ مورد (۲۳/۹ درصد) از موارد ورم پستان‌های تحت بالینی، باکتری‌های *کلی‌فرمی* نقش داشتند. بیشترین گونه باکتری جدا شده، *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۸ مورد از ۶۷ مورد) بود. در

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

اکثر مطالعات، *استافیلوکوک‌ها* و *استرپتوکوک‌ها* شایع‌ترین یافته‌ها در ورم پستان تحت بالینی هستند (Botrel *et al*., 2010; Kalmus *et al*., 2011).

در مطالعه Moslemipur و همکاران (۲۰۱۶) میزان شیوع ورم پستان بالینی و تحت بالینی در گاوهای مورد مطالعه به ترتیب ۶/۸ و ۶۷/۵ درصد گزارش شد که *استافیلوکوکوس اورئوس* از تمام گاوهای گاوداری‌های صنعتی جدا شد (Moslemipur *et al*., 2016). در یک مطالعه دیگر، Firouzi و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند *استافیلوکوکوس اورئوس* (۳۱/۵ درصد)، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* (۲۴/۱ درصد) و *اشرشیا کلی* (۱۸/۵ درصد) از مهمترین عوامل ایجادکننده ورم پستان در گاوداری‌های شیری شیراز هستند (Firouzi *et al*., 2010). نتایج حاصل از مطالعه ما، با نتایج این محققان هم‌خوانی دارد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، ۵۲/۶ درصد از گاوهای انتخاب شده از دامداری‌های صنعتی و ۷۵/۸ درصد از گاوهای دامداری‌های سنتی به ورم پستان تحت بالینی مبتلا بودند. این تفاوت از نظر آماری معنادار بود (داده‌ها نشان داده نشده). نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج حاصل از مطالعه Moslemipur و همکاران در سال ۲۰۱۶ مطابقت دارد. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه این محققان، آلودگی با عوامل باکتریایی مسبب ورم پستان در گاوداری‌های صنعتی به طور معناداری کمتر از گاوداری‌های سنتی بود (Moslemipur *et al*., 2016). با توجه به اینکه گاوداری‌های صنعتی، بر اساس سیستم‌های مدیریت بهداشتی اداره می‌شوند و طراحی جایگاه دام، اصول پرورش گاو و سیستم‌های پیشگیری و درمان به صورت کاملا اصولی رعایت می‌گردد، شیوع پایین‌تر ورم پستان تحت بالینی نسبت به گاوداری‌های سنتی قابل انتظار است.

از آنجایی که بسیاری از عوامل باکتریایی دخیل شناسایی شده در بروز ورم پستان تحت بالینی، جز عوامل بیماری‌زای محیطی می‌باشند، مسلما رعایت اصول بهداشتی در نظافت جایگاه دام و استفاده از بستر مناسب در کنترل بروز این عوامل در دامداری‌های سنتی موثر خواهد بود. نتایج مطالعه ما با نتایج حاصل از مطالعه Goli و همکاران در سال ۲۰۱۲، مطابقت دارد. بر اساس نتایج مطالعه این محققان، تفاوت در میزان ابتلا به عوامل باکتریایی مسبب ورم پستان به نوع واحد دامداری و اندازه گله وابسته است (Goli *et al*., 2012).

بر اساس نتایج حاصل از مطالعه ما، ۶۴/۱ درصد از گاوهای تحت مطالعه در دوره اول شیرواری و ۶۸/۹ درصد از گاوها در دوره دوم شیرواری به ورم پستان تحت بالینی مبتلا بودند. این تفاوت‌ها از نظر آماری معنادار نبود. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه Busato و همکاران (۲۰۰۰)، شیوع ورم پستان تحت بالینی در گاوداری‌های گاو شیری در سوئیس، در سه ماهه اول دوره شیردهی (از روز ۷ تا ۱۰۰ پس از زایمان)، ۲۱/۲ درصد و در دوره دوم شیرواری (از روز ۱۰۱ تا ۳۰۵ روز پس از زایمان)، ۳۴/۵ درصد بود. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان ابتلا به ورم پستان تحت بالینی در اوایل دوره شیردهی کمتر از اواسط دوره شیردهی است (Busato et al., 2000). این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه ما کاملا مطابقت داشت. در این مطالعه، تأثیر حساسیت سنی نیز به عنوان یک عامل خطر برای ابتلا به ورم پستان تحت بالینی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این ارزیابی نشان داد که ۴۹ درصد از گاوهای در گروه سنی زیر ۴ سال و ۸۴/۳ درصد از گاوهای بالای ۴ سال، به ورم پستان تحت بالینی مبتلا بودند. این تفاوت از نظر آماری معنادار بود. Abdel-Rady و Sayed (۲۰۰۹) عنوان کرده‌اند که گاوهای ۵ تا ۸ ساله (با

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

شیوع ۱۵/۴۳ درصد) نسبت به گاوهای ۲ تا ۴ ساله (با شیوع ۳/۷۱ درصد) در ابتلا به ورم پستان تحت بالینی مستعدتر هستند (Abdel-Rady & Sayed, 2009).

در مطالعه حاضر، ۶ جنس باکتری جدا شده از نظر حساسیت به آنتی بیوتیک‌های مختلف بررسی شدند. از این تعداد ۴ مورد گرم مثبت و شامل *استافیلوکوک* و استرپتوکوک‌ها و ۲ مورد گرم منفی و شامل *اشرشیا کلی* و *انتروباکتر* بودند که حساسیت آن‌ها به چند نوع آنتی‌بیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این‌که در حدود ۸۷/۵ درصد از سویه‌های *استافیلوکوک* دارای ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک می‌باشند، لذا به نظر می‌رسد مطالعات بیشتری به منظور اتخاذ درمان‌های جایگزین جهت مبارزه با ورم پستان تحت بالینی با عاملیت *استافیلوکوک* در مزارع لبنی ضروری باشد (Widianingrum *et al*., 2016; Widianingrum *et al*., 2019).

Widianingrum و همکاران (۲۰۱۶)، با مشاهده *استافیلوکوکوس اورئوس‌های* جداشده از نمونه‌های دامی (شیر بز و گاو) و استفراغ و عفونت‌های پوستی انسانی، نشان دادند که ۸۰ درصد جدایه‌های *استافیلوکوکی* در انسان، ۷۶/۹۲ درصد جدایه‌های *استافیلوکوکی* از شیر گاو و ۴۱/۶۷ درصد از نمونه‌های بز به آمپی‌سیلین مقاوم بودند (آمپی‌سیلین از خانواده پنی‌سیلین‌هاست). بنابراین، مصرف محصولات لبنی آلوده، احتمال ابتلا به سوش‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک را در انسان افزایش می‌دهد. *استرپتوکوک‌ها* به عنوان عوامل با شیوع کمتر در ورم پستان در نظر گرفته می‌شوند، همانطور که در این مطالعه نیز میزان شیوع *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *دیس‌آگالاکتیه* ۱۹/۴ درصد به دست آمد (Widianingrum *et al*., 2016). این پاتوژن‌های فرصت‌طلب در محیط پراکنده هستند و می‌توانند روی زمین، آب و کود دامی یافت شوند. با این حال، برخی از مطالعات، گونه‌های *استرپتوکوکوس* را به عنوان عامل اصلی جدا شده از ورم پستان‌های تحت بالینی در بوفالو شناسایی کرده‌اند (Fagiolo & Lai, 2007). همچنین نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام استرپتوکوک‌های جدا شده از گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی در این مطالعه نشان داد که همه آنتی‌بیوتیک‌ها در برابر این جنس از باکتری، دارای عملکرد فوق‌العاده‌ای بودند. این نتایج، داده‌های مطالعه Langoni و همکاران (۲۰۰۱) را تایید می‌کند (Langoni *et al*., 2001).

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، فراوانی نسبی *اشرشیا کلی* در بروز ورم پستان تحت بالینی (۱۶/۴ درصد) بود که تا حدودی با داده‌های به دست آمده توسط Vásquez-García و همکاران (۲۰۱۷) مشابهت ندارد (Vásquez-García *et al*., 2017). بر اساس نتایج حاصل از مطالعه این محققان، فراوانی نسبی میکروارگانیسم *اشرشیا کلی* در نمونه‌های شیر مورد بررسی، ۴/۵ درصد گزارش گردید. این اختلاف احتمالا ناشی از تفاوت در حجم کلی نمونه‌های مورد بررسی بوده است.

شیوع ورم پستان مرتبط با *کلی‌فرم* در بین گاوها در این مطالعه ۲۳/۹ درصد بود که در مقایسه با ۱۴/۴ درصد گزارش شده توسط Byarugaba و همکاران (۲۰۲۱)، در اوگاندا نسبتا بیشتر بود (Byarugaba *et al*., 2021). از طرفی در مقایسه با ۶۶ درصد گزارش شده از تانزانیا (Karimuribo *et al*., 2005) و همچنین ۳۱/۹ درصد گزارش شده از اردن (Hawari & Al-Dabbas, 2008) کمتر بود. تفاوت در فراوانی نسبی باکتری‌های *کلی‌فرم* در مطالعات مختلف،

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

می‌تواند ناشی از تفاوت در منابع محیطی مختلف باشد. شیوع بالا ممکن است نشان‌دهنده آلودگی خاک منطقه یا مدفوع باشد. باکتری‌های *کلی‌فرم* از محیط اطراف مانند بستر آلوده، مواد دفعی یا آب آلوده سرچشمه می‌گیرند. هنگامی که سرپستانک در تماس با محیط آلوده به ارگانیسم‌های *کلی‌فرمی* قرار می‌گیرد، به‌ویژه پس از شیردوشی، این عوامل وارد کانال سرپستانک شده و پستان را عفونی می‌کنند (Contreras & Rodriguez, 2011). بنابراین، ارتقای بهداشت و پیشگیری از خوابیدن دام پس از شیردوشی و تماس سرپستانک‌ها با آلودگی‌های محیطی در کنترل ورم پستان‌های تحت بالینی از اهمیت بالایی برخوردار است.

محققان نشان دادند که ایزوله‌های *اشرشیا کلی* جدا شده از نمونه‌های مورد بررسی، دارای مقاومت آنتی‌بیوتیکی صد در صدی نسبت به جنتامایسین هستند. یافته‌های مطالعه ما با نتایج حاصل از مطالعه Costa (۲۰۰۸) مطابقت دارد. این محقق مشاهده کرد که آمینوگلیکوزیدها و سولفونامیدها دارای اثرات ضد میکروبی کمتری در برابر *اشرشیا کلی* هستند. نتایج این مطالعه بیانگر ایجاد مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های پر کاربرد مانند پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و تا حدی لینکومایسین بود که مطالعات مشابه انجام‌شده در کشور نیز این نتایج را تائید می‌کند (Costa, 2008). نتایج حاصل از مطالعات اخیر نشان داده است که میزان حساسیت و مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، در مناطق گوناگون، متفاوت است که علت آن را می‌توان به مقدار و روش استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و تنوع آن در مناطق مختلف کشور نسبت داد (Mirzaei *et al*., 2012; Farajpour *et al*., 2015). همچنین در این رابطه می‌توان به استفاده نامناسب از دارو، ناآگاهی کاربران، استفاده از درمان تک‌دارویی، سهل‌انگاری در روند درمان و فروش انبوه آنتی‌بیوتیک‌ها توسط شرکت‌های داروسازی اشاره نمود (Handayani *et al*., 2017).

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از فراوان‌ترین باکتری‌های موجود روی پوست و غشاهای مخاطی است. این باکتری فراوان‌ترین عامل ایجاد ورم پستان بالینی و تحت بالینی است و طی شیردهی می‌تواند از طریق شیر دفع شود. بنابراین، شیر و همچنین سایر محصولات لبنی می‌توانند به عنوان عامل انتقال باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به انسان عمل کنند. برای جداسازی این باکتری از شیر دام مبتلا به ورم پستان، از محیط‌های کشت اختصاصی و افتراقی مانند مانیتول سالت آگار، برد پارکر آگار، دی‌ان‌ایز آگار و محیط O-F استفاده می‌شود. دقت تشخیص وابسته به این محیط‌ها خیلی بالا نبوده و گاهی محقق را با خطا مواجه می‌سازد. بر این اساس، برای تفریق جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* از سایر کوکسی‌های گرم مثبت، از جمله میکروکوکوس‌ها و *استرپتوکوکوس‌ها* و همچنین *استافیلوکوکوس‌های* غیراورئوس (مانند *استافیوکوکوس‌های کواگولاز* منفی) از روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی مانند PCR استفاده می‌شود. یکی از ژن‌های مورد استفاده برای تشخیص جنس و گونه *استافیلوکوکوس اورئوس*، ژن *nuc* می‌باشد که جزء ژن‌های خانه‌دار بوده و مسئول کد کردن نوکلئاز باکتریایی است. ژن دیگری که در مطالعات علمی به عنوان ژن اختصاصی جنس و گونه مورد استفاده قرار می‌گیرد، ژن *femA* می‌باشد که مسئول کد کردن یک پروتئین ۴۸ کیلودالتونی است که در متابولسیم باکتری، سنتز دیواره سلولی و رشد باکتری در محیط کشت نقش دارد. همچنین مشخص شده است که موتاسیون و یا غیر فعال سازی این ژن باعث کاهش مقاومت به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین می‌شود؛

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

بنابراین *femA* به عنوان یک عامل مقاومت به متی‌سیلین نیز شناخته شده است. میزان بالای مقاومت به پنی‌سیلین در جدایه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* اخذ شده از موارد ورم پستان استان همدان نشان داد که آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین نباید به عنوان آنتی‌بیوتیک انتخابی جهت درمان گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی استفاده شود. همچنین با توجه به امکان انتقال عوامل مسبب ورم پستان به انسان از طریق شیر، حضور جدایه‌های دارای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های انسانی از جمله؛ آزیترومایسین، متی‌سیلین و ونکومایسین بسیار حائز اهمیت بوده و نیازمند توجه جدی است (Sharifi *et al*., 2022). افزایش روزافزون تعداد سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک و نگرانی‌ها در مورد باقیمانده آنتی‌بیوتیک‌ها در مواد غذایی از جمله شیر باعث گسترش تحقیقات برای جستجوی ترکیبات ضد میکروبی جدید و همچنین جایگزین‌های مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها شده است. با توجه به سابقه تاریخی استفاده از گیاهان دارویی و اسانس آنها در درمان بیماری‌ها، اسانس‌های گیاهی به علت داشتن اثرات ضد میکروبی وسیع علیه میکروارگانیسم‌ها و عوارض جانبی کمتر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، جایگزین‌های مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها هستند. در گاوداری‌های ارگانیک به علت ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، ورم پستان یک مشکل جدی محسوب می‌شود و تقاضای زیادی برای داروهای ضد میکروب طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی وجود دارد (Rahchamani *et al*., 2023).

از آنجایی که عفونت‌های باکتریایی به عنوان عامل اصلی ورم پستان گاوی شناخته می‌شوند، آنتی‌بیوتیک‌ها برای دهه‌ها پایه اصلی درمان بوده‌اند. حجم وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در صنایع شیر، به کنترل و درمان ورم پستان اختصاص داده شده است. بررسی رویکردهای غیر آنتی‌بیوتیکی روشی مؤثر برای درمان ورم پستان گاوی است (Touza-Otero *et al*., 2024). اختلافات مشاهده شده در حساسیت باکتری‌های جدا شده به آنتی‌بیوتیک‌ها را می‌توان با الگوی متفاوت مصرف آنتی‌بیوتیک در درمان ورم پستان برطرف کرد (Esrafili *et al*., 2023; Panchal *et al*., 2024).

نتیجه‌گیری

محصولات لبنیاتی از جمله شیر می‌توانند به عنوان عامل انتقال باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به انسان عمل کنند. افزایش روزافزون تعداد سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک در شیر باعث گسترش تحقیقات برای جستجوی ترکیبات ضد میکروبی جدید و همچنین جایگزین‌های مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که شیوع ورم پستان تحت بالینی حدود ۶۷ درصد بود. توزیع شایع‌ترین باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های شیر عبارت بود از: *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوک کواگولاز منفی*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس دیس‌آگالاکتیه* و *انتروباکتر*.

تضاد منافع

تضاد منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

References

Abdel-Rady A. and Sayed M. Epidemiological studies on subclinical mastitis in dairy cows in assiut governorate. Veterin World, 2009; 2 (10): 373-380.

Abed A.H., Menshawy A.M.S., Zeinhom M.M.A., Hossain D., Khalifa E., Wareth G. and Awad MF. Subclinical mastitis in selected bovine dairy herds in North Upper Egypt: Assessment of prevalence, causative bacterial pathogens, antimicrobial resistance and virulence-associated genes. Microorganisms, 2021; 9 (6): 1175.

Anakalo S.A., Gathoni Tura G. and Mwangi M. Prevalence of bovine mastitis amongst small holder dairy herds in keya. Isreal J Vet Med, 2004; 80: 307–312.

Argaw A. Review on epidemiology of clinical and subclinical mastitis on dairy cows. Food Sci Qual Manag, 2016; 52: 56-65.

Bereda A., Yilma Z., Eshetu M. and Yousuf MK. Hygienic practices, microbial quality and safety of raw cow's milk and traditional fermented milk (Irgo) in selected areas of Ethiopian Central Highlands. East Afr J Veterin Animal Sci, 2018; 2 (1): 17-26.

Bradley AJ., Breen JE., Payne B., White V. and Green MJ. An investigation of the efficacy of a polyvalent mastitis vaccine using different vaccination regimens under field conditions in the United Kingdom. J Dairy Sci, 2015; 98: 1706-1720.

Botrel MA., Haenni M., Morignat E., Sulpice P., Madec JY. and Calavas D. Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhone-Alpes, France. Foodborne Pathog Dis, 2010; 7 (5): 479-487.

Busato A., Trachsel P., Schällibaum M. and Blum J.W. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. Prev Vet Med, 2000; 44: 205-220.

Byarugaba DK., Nakavuma JL., Vaarst M. and Laker C. Mastitis occurrence and constraints to mastitis controlling smallholder dairy farming systems in Uganda. Livestock Res Rural Dev, 2008; 20 (5): Retrieved September 29, 2021.

Contreras GA. and Rodriguez JM. Mastitis: Comparative etiology and epidemiology. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2011; 16 (4): 339-356.

Costa GM. Mamite bovina em rebanhos leiteiros da região sul do Estado de Minas Gerais. Tese de Doutorado, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 2008; PP: 123.

Das D., Panda SK., Kundu AK., Jena B., Das BC. and Sahu RK. Haematological and metabolic profile test of mastitis affected bovines in Odisha. 2018; 6: 3022-3024.

Esrafili S., Ghiami Raad M. and Mousavi Ara SA. Identification and determination of antibiotic resistance pattern of bacterial agents that causes bovine clinical mastitis

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

composition in dairy cows. Earth Environ Sci, 2020; 518: 012032.

Hawari AD. and Al-Dabbas. Prevalence and distribution of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Jordan. Am J Anim Vet Sci, 2008; 3 (1): 36-39.

Kalmus P., Aasmae B., Karssin A., Orro T. and Kask K. Udder pathogens and their resistance to antimicrobial agents in dairy cows in Estonia. Acta Vet Scand, 2011; 53 (1): 4.

Karimuribo ED., Fitzpatrick JL., Bell CE., Swai ES., Kambarage DM. and Ogden NH. Clinical and subclinical mastitis in smallholder dairy farms in Tanzania: risk, intervention and knowledge transfer. Prev Vet Med, 2005; 74 (1): 84-98.

Kumari T., Bhakat C. and Choudhary RK. A review on sub clinical mastitis in dairy cow. Int J Pure App Biosci, 6 (2): 1291–1299.

Luo Y., Kong Z., Yang B., He F., Huan C., Li J. and Yi K. Relationship between microflora changes and mammary lipid metabolism in dairy cows with mastitis. Animals, 2023; 13: 2773.

Langer A., Sharma S., Sharma NK. and Nauriyal DS. Comparative efficacy of different mastitis markers for diagnosis of sub-clinical mastitis in cows. Int J Appl Sci Biotechnol, 2014; 2 (2): 121-125.

Langoni H., Domingues PF., Molero Filho JR. and Baldini S. 2001. Etiologia e

in Tabriz. New Find Veter Med, 2023; 6 (2): 74-82.

Fagiolo A. and Lai O. Mastitis in buffalo. Ital J Anim Sci, 2007; 6: 200-206.

Farajpour M., Sadeghi ZM. and Ghiamirad M. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* in raw milks of Saqez. J Food Hygiene, 2015; 5 (3): 39-48. (In Persian)

Firouzi R., Rajaian H., Tabaee I. and Saeedzadeh A. *In vitro* antibacterial effects of marbofloxacin on microorganisms causing mastitis in cows. J Veter Res, 2010; 65 (1): 51-55. (In Persian)

Goli M., Ezzatpanah H., Ghavami M., Chamani M. and Nedaeinia R. Multiplex polymerase chain reaction as a mastitis screening test for major pathogens in dairy cow farms at different size scales and in several parities. J Res Agric Sci, 2012; 8: 23-33.

Hetzel M., Bonfoh B., Farah Z., Traoré M., Simbé CF., Alfaroukh IO., et al. Diarrhoea, vomiting and the role of milk consumption: Perceived and identified risk in Bamako (Mali). Trop Med Intl Health, 2004; 9 (10): 1132-1138.

Handayani RS., Siahaan S. and Herman MJ. Antimicrobial resistance and its control policy implementation in hospital in Indonesia. J Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Kesehatan, 2017; 1: 131-140.

Harjanti DW. and Sambodho P. Effects of mastitis on milk production and

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

Qayyum A., Khan JA., Hussain R., Avais M., Ahmad N. and Khan MS. Investigation of milk and blood serum biochemical profile as an indicator of subclinical mastitis in Cholistani cow. Pak Vet J, 2016; 36: 275-279.

Rahchamani R., Noori S. and Bayat Kouhsar J. Antibacterial effect of essential oils of peppermint and pennyroyal on major bovine mastitis bacteria. New Find Veter Med, 2023; 6 (1): 64-75.

Saleki K. and Moradi H. (2013). Bacterial agents of mastitis in dairy cow farms in Ilam city. J Ilam Univ Med Sci, 2013; 20 (4): 88–95. (In Persian)

Sharifi A., Sobhani K., Farzinpour A. and Vaziry A. Evaluation of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. Veter Res Biol Prod, 2022; 4 (4): 68-73.

Shahzad W., Altaf M., Ahmad M., Munir R., Amin M.T., Khan M.S., et al. Prevalence and molecular diagnosis of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis in lactating Nili-Ravi Buffaloes (*Bubalus bubalis*) at Livestock Experiment Station, Bahadurnagar, Okara, Pakistan. Buffalo Bull, 2013; 32: 1041-1045.

Touza-Otero L., Landin M. and Diaz-Rodriguez P. Fighting antibiotic resistance in the local management of bovine mastitis. Biomed Pharmacother, 2024; 170: 115967.

Vásquez-García A., dos Santos Silva T., de AlmeidaQueiroz SR., Godoy SHS., sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em búfalos (*Bubalus bubalis*). Ars Vet, 2001; 17: 213-217.

Morales-Ubaldo AL., Rivero-Perez N., Valladares-Carranza B., Velázquez-Ordoñez V., Delgadillo-Ruiz L. and Zaragoza-Bastida A. Bovine mastitis, a worldwide impact disease: Prevalence, antimicrobial resistance, and viable alternative approaches. Veter Animal Sci, 2023; 21: 100306.

Mirzaei H., Farhoudi H., Tavassoli H., Farajli M. and Monadi A. Presence and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw and pasteurized milk and ice cream in Tabriz by culture and PCR techniques. Afr J Microbiol Res, 2012; 6 (32): 6224-6229.

Moslemipur F., Mostafaloo Y. and Khanahmadi A. Survey of conformity between organoleptic and microbial culture techniques to diagnose cows' mastitis and antibiogram test in milk of industrial and traditional herds. Animal Sci Res, 2016; 26 (1): 51-62. (In Persian).

Panchal J., Patel A., Patel S. and Goswami D. Understanding mastitis: Microbiome, control strategies, and prevalence - A comprehensive review. Microb Pathog, 2024; 187: 106533.

Pandey V., Aditi P., Gupta S.K., Neelesh Sh. and Deepak Sh. Impact of subclinical mastitis on blood biochemistry of dairy cows. The Ind J Animal Sci 2012; 82 (5): 477-478.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

Fernandes AM., Sousa RLM., et al. Species identification and antimicrobial susceptibility profile of bacteria causing subclinical mastitis in buffalo. Pesq Vet Bras, 2017; 37 (5): 447-452.

Vojgani M., Peyghambari S. and Hakimi H. Detection of common bacteria implicated in bovine mastitis in bulk tank milk by polymerase chain reaction. J Vet Res, 2008; 63 (1): 69-73.

Widianingrum DC., Noviandi CT. and Salasia SIO. Antibacterial and immunomodulatory activities of Virgin Coconut Oil (VCO) against *Staphylococcus aureus*. Heliyon 2019; 5: 1-5.

Widianingrum DC., Windria S. and Salasia SIO. Antibiotic resistance and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine, crossbred Etawa goat and human. Asian J Anim Vet Adv, 2016; 11: 122-129.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

JOAVM
Journal of
Alternative Veterinary Medicine
joavm.kazerun.iau.ir

Research Article

Islamic Azad University
Kazerun Branch
Fars, Iran

Isolation and Determination of Antibiotic Resistance Pattern of Bacterial Agents of Subclinical Mastitis in Cows of Masal City, Guilan

Daryoush Behzadpour[1*], Reza Biniaz[2], Kaveh Madhoush[3], Behzad Kaviani[4]

[1]Assistant Prof., Department of Veterinary Medicine, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
[2]M.Sc., Department of Veterinary Medicine, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
[3]Technical Manager of Health Monitoring System Laboratory, Rasht, Iran
[4]Prof., Department of Horticultural Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Received: 03/Jun/2024 Revised: 10/Aug/2024 Accepted: 28/Aug/2024

Abstract

Background and aim: Mastitis is the most costly disease threatening the cow breeding industry. Early diagnosis of clinical mastitis cases is the best option to prevent cows from getting mastitis. The aim of the present study was to investigate the prevalence and determine the antibiotic resistance pattern of bacterial agents causing subclinical mastitis in dairy cows of Masal.

Materials and Methods: In total, 100 samples of raw milk were collected from cow farms in Masal city. The samples were evaluated and scored using the California mastitis test. The positive samples collected in each milking session were transferred to the laboratory at the frozen condition and microbial culture and antibiogram were performed on them. All data were statistically analyzed using SPSS software version 25.

Results: Results showed that the prevalence of subclinical mastitis was about 67%. The distribution of the most common bacteria isolated from milk samples included: *Staphylococcus aureus* with 26.9%, *Escherichia coli* with 16.4%, coagulase-negative *Staphylococcus* with 10.4%, *Streptococcus agalactiae* with 10.4%, *Streptococcus dysgalactiae* with 9% and *Enterobacter* with 7.5%. Also, 71.4% of coagulase-negative *Staphylococcus* isolates and 66.7% of *Staphylococcus aureus* isolates were resistant to penicillin.

Conclusion: In general, all bacterial agents isolated from the studied samples were sensitive to ciprofloxacin. Totally, milk produced from cows with subclinical mastitis transmits antibiotic-resistant microbes to humans and leads to the spread of antibiotic-resistant microbes in humans. Therefore, the prevention and treatment of subclinical mastitis in cows needs more attention.

Keywords: *Mastitis, Antibiotic resistance, Cow, Masal*

Cite this article as: Daryoush Behzadpour, Reza Biniaz, Kaveh Madhoush, Behzad Kaviani. Isolation and Determination of Antibiotic Resistance Pattern of Bacterial Agents of Subclinical Mastitis in Cows of Masal City, Guilan. J Altrn Vet Med. 2024; 7(21): 1248-1269.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-04-04]

**** Corresponding Author***
Assistant Prof., Department of Veterinary Medicine, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.
E-mail: dbehzadpour @gmail.com, Orcid: https://orcid.org/0000-0002-2630-7356