



# جداسازی و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی عوامل باکتریایی ورم پستان تحت بالینی در گاوها در شهر ماسال، گیلان

داریوش بهزادپور<sup>\*</sup>، رضا بی‌نیاز<sup>۱</sup>، کاوه مدهوش<sup>۲</sup>، بهزاد کاویانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> استادیار، گروه دامپزشکی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

<sup>۲</sup> کارشناس ارشد، گروه دامپزشکی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

<sup>۳</sup> مدیر فنی آزمایشگاه سامانه پایش سلامت، رشت، ایران

<sup>۴</sup> استاد، گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۴ | تاریخ 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 ابتلاء گاوها به ورم پستان است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی شیوع و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی عوامل باکتریایی ایجاد کننده ورم پستان تحت بالینی در گاوها شیری ماسال بود.

**مواد و روش‌ها:** در مجموع، ۱۰۰ نمونه شیر خام از گاوداری‌های شهرستان ماسال جمع آوری شد. نمونه‌ها با استفاده از آزمون ورم پستان کالیفرنیایی مورد بررسی قرار گرفتند و امیازدهی شدند. نمونه‌های مثبت جمع آوری شده در هر نوبت دوشش، در شرایط انجماد به آزمایشگاه منتقل شده و کشت میکروبی و آنتی بیوگرام 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 شایع ترین باکتری‌های جذا 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 (*Streptococcus agalactiae*) با ۱۰/۴ درصد، استرپتوکوکوس دیس آگالاكتیه (*Streptococcus dysgalactiae*) با ۹ درصد و انتروباکتر (*Enterobacter*) با ۷/۵ درصد. همچنین، ۷۱/۴ درصد از ایزوله‌های استافیلوکوک کواگولاز منفی و ۶۹/۷ درصد از جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس به پنی سیلین مقاوم بودند. به طور کلی، همه عوامل باکتریایی جدا شده از نمونه‌های مورد مطالعه به سپروفلوكسازین حساس بودند.

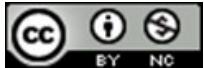
**نتیجه‌گیری:** در مجموع، شیر تولید شده از گاوها مبتلا به ورم پستان تحت بالینی، میکروب‌های مقاوم به آنتی بیوتیک را به انسان منتقل می‌کند و منجر به شیوع میکروب‌های مقاوم به آنتی بیوتیک در انسان می‌گردد. بنابراین، پیشگیری و درمان ورم پستان تحت بالینی در گاوها به مطالعه و توجه بیشتری نیاز دارد.

**واژه‌های کلیدی:** ورم پستان، مقاومت آنتی بیوتیکی، گاو، ماسال

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

\* نویسنده مسئول: استادیار، گروه دامپزشکی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2630-7356> Email: [dbehzadpour@gmail.com](mailto:dbehzadpour@gmail.com)



شستشو و ضد عفونی سرپستانک‌ها، عدم بازدید دوره‌ای گاوهای شیری جهت تشخیص سریع ورم پستان، عدم استفاده از آنتی بیوتیک‌های 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 فناوری‌های مدرن در ورم پستان بالینی بهترین گزینه برای جلوگیری از ابتلا گاوهای 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 آنتی بیوتیکی جدایه‌ها در گاوهای شیری صنعتی در سطح شهرستان تبریز انجام شد. در این مطالعه، ۲۳۴ نمونه شیر

## مقدمه

شیر یک محیط غنی از مواد مغذی برای کشت و رشد بسیاری از میکرووار گانیسم‌ها است. استافیلکوکوس، لاکتوپاسیلوس، 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 آلدگی 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 پیتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه تبدیل می‌نمایند. در طول فرآیند پاستوریزه کردن شیر، این ترکیبات ایجاد لخته کرده و باعث کاهش کیفیت شیر می‌گردد (Hetzell *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 Bradley بهداشتی در صنعت پرورش گاو شیری می‌باشد (et al., 2015).

نقص در اجرای اموری از قبیل عدم شستشوی سالن شیر دوشی، عدم رعایت اصول بهداشتی کارگران دامداری، عدم

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) شایع ترین 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 میکرووارگانیسم‌ها.

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 ورم پستان 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 مستقیماً به میزان تولید شیر وابسته است و می‌تواند بلافاصله پس از

گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی، مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که اشرشیا کلی با ۱۸/۸ درصد و استافیلوکوکوس‌های کواگولاژ مثبت با ۱۷/۹ درصد بیشترین نقش را در ابتلا به ورم پستان داشتند. جنتامايسین با ۸۳/۹۵ درصد حساسیت، مؤثرترین و پنی‌سیلین با ۱/۲۳ درصد کم اثرترین آنتی بیوتیک شناخته شدند. جدایه‌های اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس‌کواگولاژ منفی و باسیلاسه بیشترین حساسیت را به جنتامايسین و کمترین حساسیت را به پنی‌سیلین داشتند. کوتیریموکسازول مؤثرترین و پنی‌سیلین کم اثرترین دارو علیه استافیلوکوکوس‌های کواگولاژ مثبت بودند. آنتی بیوگرام و انتخاب صحیح آنتی بیوتیک قبل از شروع به درمان، تأثیر زیادی در کاهش مقاومت میکروبی در موارد ورم پستان خواهد داشت (Esrafil et al., 2023).

در چندین مطالعه، روی درمان‌های جایگزین، از جمله عصاره‌های گیاهی، انسان‌ها یا پیتیدها متمنکر شده‌اند. برخی از آثار کاربرد نانوتکنولوژی و پلیمرها در برابر باکتری‌های مرتبط با ورم پستان گواهی گزارش شده است. نتایج برخی تحقیقات نشان داد که تعدادی از جایگزین‌های گیاهی ممکن است روی باکتری‌های مرتبط با ورم پستان گواهی مؤثر باشند (Morales-Ubaldo et al., 2023).

Panchal et al., 2024) مستلزم اقدامات پیشگیرانه و درمانی است (.

ورم پستان یک بیماری چند عاملی است که همچنان شایع‌ترین و مهم‌ترین 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 Qayyum et al., 2016; Das et al., 2018 دسته بالینی یا تحت بالینی طبقه‌بندی کرد. ورم پستان بالینی با

آنتیبیوگرام است. ظهور مقاومت ضد میکروبی در میان پاتوژن‌های مسبب بروز ورم پستان، پیامدهای اقتصادی شدیدی برای تولید کنندگان 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 قابل توجه 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 بنای 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.

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

عوامل خطر مستعد کننده 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 ایجاد کننده آن در مصر نشان دادند که باکتری‌ها عامل ایجاد کننده 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 حالی که 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)، استرپتوكوکوس (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

آزمایش CMT برای هر گاو تحت مطالعه با ذکر کارته  
در گیر ثبت شد.

### نمونه برداری ثانویه

پس از تأیید 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، بی اشتہایی، درد، سفتی و پرخونی پستان یا تغییر کیفیت و رنگ شیر)، کارتهای دام مزبور با پنه و الكل ۷۰ درصد ضد عفونی شدند و با رعایت نکات بهداشتی، مقداری شیر در داخل ظروف استریل نمونه برداری دوشیده شد. در هنگام نمونه برداری، 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. نمونه های مثبت CMT جمع آوری شدند و با رعایت زنجیره سرد جهت انجام کشت میکروبی و آزمون آنتی بیوگرام به آزمایشگاه منتقل گردید. برای تفسیر نتایج این آزمون از جدول ۱ استفاده شد.

### کشت میکروبی

نمونه هایی که تست کالیفرنیایی آنها مثبت بود، برای تعیین نوع باکتری کشت داده شدند. به این منظور، ۲ میلی لیتر 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 لوب استاندارد استریل در کنار شعله روی محیط های بلاد آگار (Blood Agar) و برات (BHI) کشت خطی چهار قسمتی داده شد. در مرحله بعد، محیط های کشت در شرایط هوایی در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند و پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت از لحاظ رشد میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند.

### نمونه برداری اولیه

در مجموع، ۱۰۰ نمونه شیر خام از دامداری های صنعتی و سنتی شهرستان ماسال جمع آوری 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 نمونه برداری قرار گرفتند. نمونه گیری به طور همزمان در دوشش صبح، از گاوهای شیری واحد های 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 کارتیه ها با آب و لرم شسته شدند تا از نظر آلودگی های مذکوری و آلودگی های 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 میلی لیتر از شیرهای دوشیده شده در فنجانک های مخصوص آزمون CMT (کالیفرنیایی) ریخته شد. سپس ۲ میلی لیتر محلول شیر آزما 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 باقیستی مورد مشاهده قرار گیرد. لخته شدن مخلوط شیر و معرف، نشان دهنده وجود ورم پستان تحت بالینی است. نتایج

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.

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

توصیف واکنش	نمره	تفسیر	شکل محلول حاصل از مخلوط معرف و شیر
محلول معرف و شیر به صورت مایع باقی مانند، بدون تشکیل ژل، می‌تواند به خوبی از داخل فنجانک چکه کند.	-	منفی	سالم
مخلوط لزج یا ژل مانند 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 بلا فاصله 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

در صورت رشد هر گونه پرگنه در محیط‌های مربوطه یک نمونه از آن برداشته شده و با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم مورد

به طور معمول مبنای جداسازی سوش‌های باکتریایی جدا شده، معیارهای مورفولوژی کلنی، مورفولوژی میکروسکوپی، رنگ‌آمیزی گرم و واکنش‌های بیوشیمیایی می‌باشد.

می شود. 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 سانتی گراد است. سرمنشأ اصلی اشرشیا کلی مدفع است و حضور آن نشان‌دهنده آلودگی مدفع است. روشهای ساده برای تمایز بین انواع مختلف باکتری‌های کلی فرم 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 کلی فرم به صورت کلنی‌های ضخیم و لزج ظاهر می‌شوند و غیرت خمیر کننده‌ها بی‌رنگ و تخمیر کننده‌های ضعیف لاکتوز، رنگ صورتی دارند.

### آزمون آنتی بیوگرام

میزان حساسیت به آنتی بیوتیک‌های مختلف با روش انتشار دیسک (دیسک دیفیوژن) مورد ارزیابی قرار گرفت. دیسک‌های آنتی بیوتیکی شامل؛ ازروفلوکسازین، سولتریم، لینکو مايسين، لینکواپسكتين، آموکسي سيلين، تايلوزين، جنتامايسين (۱۰ ميكرو گرم)، پنزي سيلين (۱۰ واحد بين الملل)، استرپتو مايسين، سفتيفور (اکسل)، تتراسايكلين (۳۰ ميكرو گرم)، آمپي سيلين (۱۰ ميكرو گرم) و سيروفلوکسازين (۱۰ ميكرو گرم) است که با استفاده از آنها آزمون آنتی بيوگرام انجام می‌شود. همه دیسک‌های آنتی بیوتیکی از شرکت پادتن طب تهيه گردید. از استاندارد نيم مكفارلنند

بررسی بيشتر قرار گرفت. در صورت مشاهده کوکسی‌های گرم مثبت، مقداری از پرگنه برداشته شد و مجدداً در محیط بلاد آگار کشت داده شد. برای افتراق استرپتوكوکوس‌ها و استافايلوكوکوس‌ها از آزمون کاتالاز و برای تشخيص گونه‌های استرپتوكوکوس، از محیط کشت اسکولین آگار و آزمون کمپ و هپورات استفاده گردید. جهت تشخيص گونه‌های استافايلوكوکوس، از محیط مانیتول سالت آگار استفاده شد. در صورت مشاهده کوکوباسيل‌های گرم مثبت، با توجه به احتمال کورینه باکتریوم از آزمون‌های کاتالاز و مطالعه ظاهری پرگنه‌های با ظاهر سفید-خاکستری، خشك و عدم تشکيل هموليز، از محیط خون‌دار استفاده شد. کورینه باکتریوم‌ها، باسيل‌های کوتاه با اشكال کروی تا يضوي هستند. در صورت مشاهده باسيل‌های گرم منفي، از پرگنه يك نمونه برداشته و در محیط مك‌كانکی آگار کشت داده شد و به دو دسته لاکتوز مثبت و لاکتوز منفي تقسيم گردید.

باکتری‌های کلی فرم به دليل استفاده از لاکتوز، پرگنه‌هایی صورتی تا قرمز رنگ به وجود می‌آورند. کلی فرم‌ها باکتری‌هایی هستند که عموماً به عنوان شاخص كيفيت بهداشتی بودن غذاها و آب مورد استفاده قرار می‌گيرد. کلی فرم‌ها به دو دسته؛ کلی فرم‌های مدفعی و کلی فرم‌های غیر مدفعی تقسيم می‌شوند. آنها باسيل شکل، گرم منفي، بدون آندوسپور و قادر به حرکت یا باکتری‌های غير متحرك هستند که هنگام قرار گرفتن در دمای ۳۵-۳۷ درجه سانتی گراد با تولید اسيد و گاز، قند لاکتوز را تخمیر می‌کنند. اشرشیا کلی عضو ميله‌ای شکل گروه کلی فرم از روی رشد و تغیير رنگ در محیط‌های کشت معين و توانایی تخمیر لاکتوز در دمای ۴۴ درجه سانتی گراد در آزمایش‌های انجام گرفته روی کلی فرم مدفعی از بيشتر انواع دیگر کلی فرم متمایز

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 به دست آمد و شیوع بیماری ۶۷ درصد ارزیابی شد. از مجموع ۴۰۰ کارتیه مورد مطالعه، ۳ کارتیه مسدود بودند، بنابراین از مطالعه خارج شاند. نمونه‌های داخل سطل، حاصل از دوشش ۴ کارتیه هر گاو مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت نمونه شیر مربوط به 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 کواگولاز منفی؛ ۷ مورد (۱۰/۴ درصد) بودند. به این ترتیب از مجموع استافیلوکوک‌های جدا شده، ۱۸ مورد کواگولاز مثبت و ۷ مورد کواگولاز منفی بودند. به همین ترتیب، در ۶ مورد استرپتوكوکوس دیس‌آگالاكتیه (۹ درصد)، ۷ مورد استرپتوکوکوس آگالاكتیه (۱۰/۴ درصد)،

برای مطابقت دادن سوسپانسیون‌های میکروبی استفاده گردید تا سوسپانسیون خرد میکروبی با تراکم مناسب تهیه شود. کلی 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 منتقال 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 ۱۸-۲۴ دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و بعد از ساعت زیر نور چراغ، بررسی گردیدند و قطر هاله عدم رشد با خط کش 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 مریع 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 گاوهای) انجام شد. ۳۸ راس (۳۸

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

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

استافیلوکوک های کوآگولاز منفی مقاومتی در برابر آنتی بیوتیک های انروفلوکسازین، سیپروفلوکسازین، سولتریم و سفتیوفور نداشتند. در مورد باکتری گرم منفی اشرشیا کلی، جدول ۳ نشان می دهد که آنتی بیوتیک های جنتامايسین و سولتریم هیچ اثری روی این باکتری ندارند و درصد بقای آنها ۱۰۰ درصد بود. از طرف دیگر، این باکتری مقاومتی در برابر ۴ آنتی بیوتیک یعنی پنی سیلین، آمپی سیلین، سیپروفلوکسازین و سفتیوفور نداشت. مقاومت اشرشیا کلی در برابر آنتی بیوتیک های تراسایکلین، تایلوزین و لینکومایسین بالای ۵۰ درصد بود (جدول ۳ و شکل ۳). الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی انتروباکتر طوری بود که این باکتری مقاومت درصدی را در برابر آنتی بیوتیک های تراسایکلین، تایلوزین و جنتامايسین نشان داد. این باکتری مقاومتی در برابر آنتی بیوتیک های پنی سیلین، استرپتومایسین، آمپی سیلین، انروفلوکسازین، سیپروفلوکسازین، لینکومایسین و سفتیوفور نداشت (جدول ۳ و شکل ۴). نتایج حاصل از آزمون آنتی بیوگرام حساسیت باکتری های جدا شده از نمونه های مورد بررسی به آنتی بیوتیک ها در جدول ۴ آورده شده است.

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

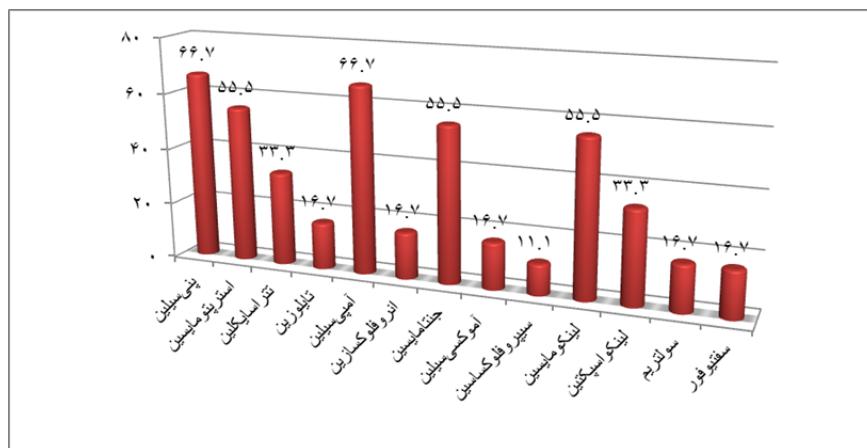
تعداد ۶ جنس باکتری جدا شده، از نظر حساسیت به آنتی بیوتیک های مختلف بررسی شدند. از این تعداد، ۴ مورد گرم مثبت و شامل استافیلوکوک و استرپتوکوک ها و ۲ مورد گرم منفی و شامل اشرشیا کلی و انتروباکتر بودند که حساسیت آنها به چند نوع آنتی بیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. استافیلوکوکوس اورئوس بالاترین مقاومت (۶۶/۷ درصد) را در برابر دو آنتی بیوتیک پنی سیلین و آمپی سیلین داشت. از طرف دیگر، پائین ترین مقاومت (۱۱/۱ درصد) را نیز در برابر سیپروفلوکسازین از خود نشان داد. مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس در برابر آنتی بیوتیک های استرپتومایسین، جنتامايسین و لینکومایسین برابر (۵۵/۵ درصد) بود (جدول ۳ و شکل ۱). الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در مورد استافیلوکوک های کوآگولاز منفی به قرار داده های ارائه شده در جدول ۳ و شکل ۲ است. بالاترین مقاومت این باکتری (۷۱/۴ درصد) در برابر پنی سیلین بود. مقاومت در برابر آمپی سیلین و استرپتومایسین به ترتیب برابر ۵۷/۱۵ و ۴۲/۸۵ درصد بود.

آنتی بیوتیک	پنی سیلین	استرپтомایسین	تراسایکلین	تایلوزین	آمپی سیلین	انروفلوکسازین	جنتامايسین	آموکسی سیلین	سیروفلوکسازین	لینکومایسین	لینکو اسپکتین	سولتریم	سفتیوفور	اورثوس	استافیلکو کروس
مقاومت به آنتی بیوتیک (درصد)	٦٦/٧	٥٥/٥	٣٣/٣	١٦/٧	١٦/٧	١٦/٧	٥٥/٥	١١/١	١٦/٧	٥٥/٥	٣٣/٣	١٦/٧	٥٥/٥	٦٦/٧	استافیلکو کروس
<b>استافیلکو کوک های کو آگولازر منفی</b>															
آنتی بیوتیک	پنی سیلین	استرپتمایسین	تراسایکلین	تایلوزین	آمپی سیلین	انروفلوکسازین	جنتامايسین	آموکسی سیلین	سیروفلوکسازین	لینکومایسین	لینکو اسپکتین	سولتریم	سفتیوفور	اورثوس	استافیلکو کوک های کو آگولازر منفی
مقاومت به آنتی بیوتیک (درصد)	٧١/٤	٤٢/٨٥	٢٨/٦	١٤/٣	٠	٢٨/٩	١٤/٣	٠	٠	٥٧/١٥	١٤/٣	٢٨/٦	٤٢/٨٥	٧١/٤	استافیلکو کوک های کو آگولازر منفی
<b>اشرشیا کلی</b>															
آنتی بیوتیک	پنی سیلین	استرپتمایسین	تراسایکلین	تایلوزین	آمپی سیلین	انروفلوکسازین	جنتامايسین	آموکسی سیلین	سیروفلوکسازین	لینکومایسین	لینکو اسپکتین	سولتریم	سفتیوفور	اورثوس	اشرشیا کلی
مقاومت به آنتی بیوتیک (درصد)	٠	١٠٠	٤٥/٥	٥٤/٥	٥٤/٥	١٨/٢	١٠٠	١٨/٢	٠	٥٤/٥	٥٤/٥	١٨/٢	٠	٠	اشرشیا کلی
<b>انتروباکتر</b>															
آنتی بیوتیک	پنی سیلین	استرپتمایسین	تراسایکلین	تایلوزین	آمپی سیلین	انروفلوکسازین	جنتامايسین	آموکسی سیلین	سیروفلوکسازین	لینکومایسین	لینکو اسپکتین	سولتریم	سفتیوفور	اورثوس	انتروباکتر
مقاومت به آنتی بیوتیک (درصد)	٤٠	٤٠	٤٠	٤٠	٢٠	٦٠	٦٠	٦٠	٦٠	٠	٠	٠	٠	٤٠	انتروباکتر

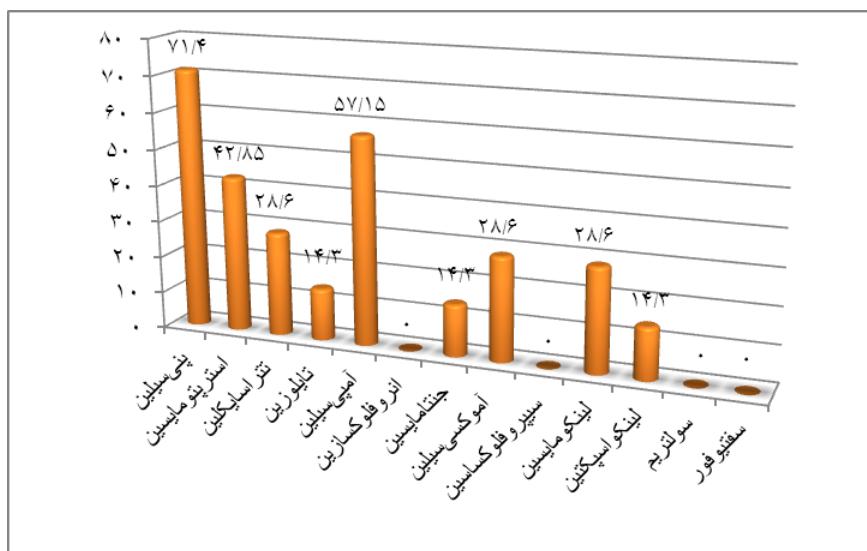
جدول ۳. الگوی مقاومت استافیلکو کروس اورثوس، استافیلکو کوک های کو آگولازر منفی، اشرشیا کلی و انتروباکتر به چند نوع آنتی بیوتیک.

آنتی بیوتیک		باکتری		استافیلو کوکوس اورثوس		استافیلو کوکوس کو آگولاز منفی		استرپتو کوکوس (هر دو جنس)		انتروباکتر		اشرشیا کلی	
آنتی بیوتیک	باکتری	آنتی بیوتیک	باکتری	آنتی بیوتیک	باکتری	آنتی بیوتیک	باکتری	آنتی بیوتیک	باکتری	آنتی بیوتیک	باکتری	آنتی بیوتیک	باکتری
پنی سیلین	۶/۱۸	۳۳/۳	۲/۷	۲۸/۶	۱۳/۱۳	۵۷/۱۵	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۱/۱۱	(درصد)
استرپتومایسین	۸/۱۸	۴۴/۵	۴/۷	۵۷/۱۵	۱۳/۱۳	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۱۰۰	۹/۱۱	(تعداد)
تراسایکلین	۱۲/۱۸	۶۶/۷	۵/۷	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۸۵/۷	۱۳/۱۳	۱۰۰	۲/۵	۴۰	۴۰	۵/۱۱	(درصد)
تاپلوزین	۱۵/۱۸	۸۳/۳	۶/۷	۸۵/۷	۱۳/۱۳	۴۲/۸۵	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۱/۱۱	(تعداد)
آمپی سیلین	۶/۱۸	۳۳/۳	۳/۷	۴۲/۸۵	۱۳/۱۳	۸۵/۷	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۱۰۰	۹/۱۱	(درصد)
انروفلوكسازین	۱۵/۱۸	۸۳/۳	۷/۷	۱۰۰	۱۳/۱۳	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۴۰	۴۰	۹/۱۱	(تعداد)
جنتامایسین	۸/۱۸	۴۴/۵	۶/۷	۸۵/۷	۱۳/۱۳	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۱۰۰	۲/۵	۴۰	۴۰	۰/۱۱	(درصد)
آموکسی سیلین	۱۵/۱۸	۸۳/۳	۵/۷	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۸۵/۷	۱۳/۱۳	۱۰۰	۴/۵	۸۰	۸۰	۹/۱۱	(تعداد)
سیپروفلوکساسین	۱۶/۱۸	۸۸/۹	۷/۷	۱۰۰	۱۳/۱۳	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۱/۱۱	(درصد)
لينکومایسین	۸/۱۸	۴۴/۵	۵/۷	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۸۵/۷	۱۳/۱۳	۱۰۰	۳/۵	۶۰	۶۰	۵/۱۱	(تعداد)
لينکواپسکین	۱۲/۱۸	۶۶/۷	۶/۷	۸۵/۷	۱۳/۱۳	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۱۰۰	۵/۵	۱۰۰	۱۰۰	۶/۱۱	(درصد)
سولتریم	۱۵/۱۸	۸۳/۳	۷/۷	۱۰۰	۱۳/۱۳	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۱۰۰	۳/۵	۶۰	۶۰	۰/۱۱	(تعداد)
سفتیفور	۱۵/۱۸	۸۳/۳	۷/۷	۱۰۰	۱۳/۱۳	۷۱/۴	۱۳/۱۳	۱۰۰	۴/۴	۱۰۰	۱۰۰	۱۱/۱۱	(درصد)

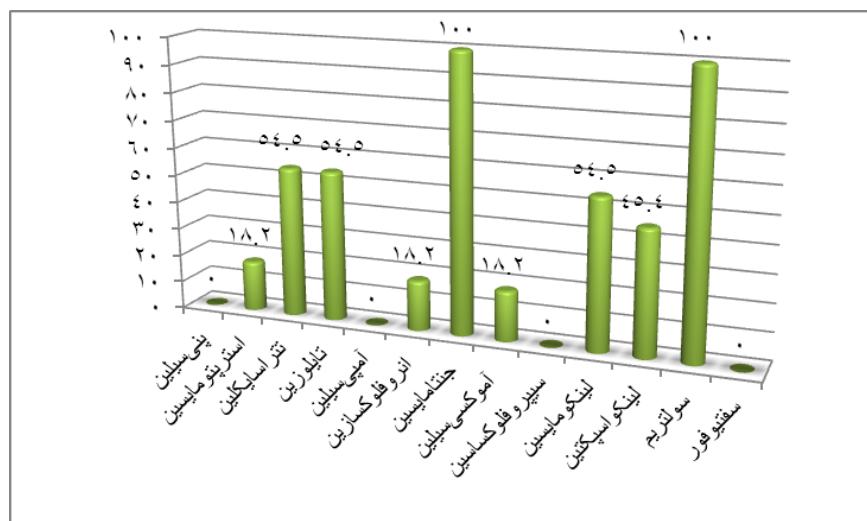
جدول ۴. نتایج حاصل از آزمون آنتی بیوگرام حساسیت باکتری های جدا شده از نمونه های مورد بررسی به آنتی بیوتیک ها.



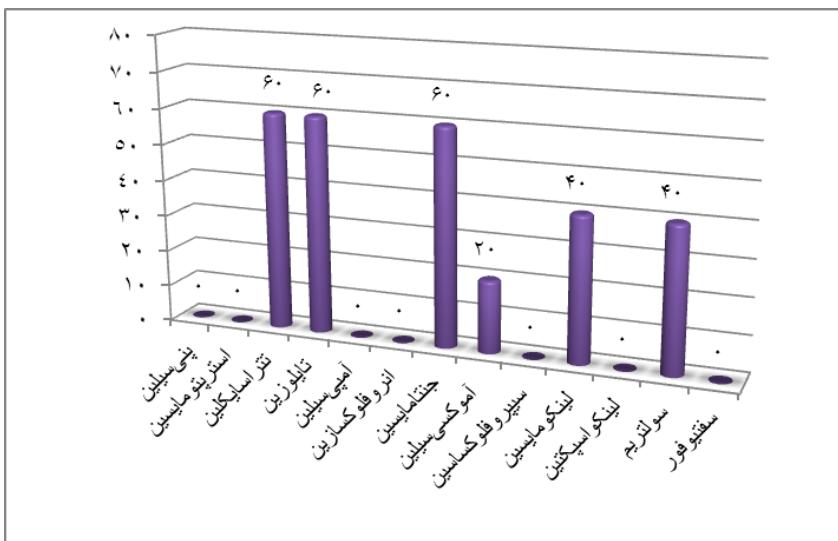
شکل ۱. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس.



شکل ۲. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوک های کوآگولاز منفی.



شکل ۳. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی اشرشیا کلی.



شکل ۴. الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی انتروپیاکتر.

در صد گزارش کردند (Vojgani *et al.*, 2008).

Moradi 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 جزئی را می‌توان به تفاوت در حساسیت آزمایشات تشخیصی و شرایط نگهداری دام‌ها نسبت داد. مطالعات گذشته نشان داده است که تست PCR برای تشخیص میکرووارگانیسم‌های 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 استرپتوكوک و در ۱۶ مورد (۲۳/۹ درصد) از موارد ورم پستان‌های تحت بالینی، باکتری‌های کلی فرمی نقش داشتند. بیشترین گونه باکتری جدا شده، استافیلوکوکوس اورئوس (۱۸ مورد از ۶۷ مورد) بود. در

## بحث

هدف از مطالعه حاضر، شناسایی عوامل شایع در بروز ورم پستان تحت بالینی در گاوداری‌های شهرستان ماسال و تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی 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 اضافه کردن محلول شیرآزمایش به شیر، DNA سلول‌های سوماتیک شیر (اسید) با محلول (قليا) 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). در این (Harjanti & Sambodo, 2020) مطالعه، ۶۷ راس گاو از ۱۰۰ راس گاو تحت مطالعه (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

از آنجایی که بسیاری از عوامل باکتریایی دخیل شناسایی شده در بروز ورم پستان تحت بالینی، جز عوامل بیماری زای محیطی می‌باشند، مسلماً 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 گاوهای 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 Busato *et al.*, 2000) این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه ما کاملاً 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 گاوهای بالای ۴ سال، به ورم پستان تحت بالینی مبتلا بودند. این تفاوت از نظر آماری معنادار بود. Abdel-Rady و Sayed (۲۰۰۹) عنوان کردند که گاوهای ۵ تا ۸ ساله (با

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 ۶۱/۸ 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 آکالاکتیف (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 هم خوانی 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، آنoddگی 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 پشگیری و درمان به صورت کاملاً اصولی رعایت می‌گردد، شیوع پایین‌تر ورم پستان تحت بالینی نسبت به گاوداری‌های سنتی قابل انتظار است.

فرصت طلب در محیط پراکنده هستند و می‌توانند روی زمین، آب و کود دامی یافت شوند. با این حال، برخی از مطالعات، گونه‌های استرپتیوکوکوس را به عنوان عامل اصلی جدا شده از ورم پستان‌های تحت بالینی در بوفالو شناسایی کردند (Fagiolo & Lai, 2007). همچنین نتایج آزمون آنتی‌بیوگرام استرپتیوکوک‌های 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 فوق العاده‌ای بودند. این نتایج، داده‌های مطالعه Langoni و Langoni *et al.*, (2001) را تایید می‌کند (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-Vásquez و همکاران (2017) مشابه ندارد (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 احتمالاً ناشی از تفاوت در حجم کلی نمونه‌های مورد بررسی بوده است.

شیوع ورم پستان مرتبط با کلی فرم در بین گاوهای در این مطالعه ۲۳/۹ درصد بود که در مقایسه با ۱۴/۴ درصد گزارش شده توسط Byarugaba و همکاران (2021)، در اوگاندا نسبتاً 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 کلی فرم در مطالعات مختلف،

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 آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بررسی شدند. از این تعداد ۴ مورد گرم مثبت و شامل استافیلیوکوک و استرپتیوکوک‌ها 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 این که در حدود ۸۷/۵ درصد از سویه‌های استافیلیوکوک 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 استافیلیوکوک در مزارع لبنی ضروری باشد Widianingrum *et al.*, 2016; Widianingrum (et al., 2019

Widianingrum و همکاران (2016)، با مشاهده استافیلیوکوکوس اورئوس‌های جدادشده از نمونه‌های دامی (شیر بز و گاو) و استفراغ و عفونت‌های پوستی انسانی، نشان دادند ۷۶/۹۲ که ۸۰ درصد جدایه‌های استافیلیوکوکی در انسان، ۴۱/۶۷ درصد درصد جدایه‌های استافیلیوکوکی از شیر گاو و آمپیسیلین 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. استرپتیوکوک‌ها به عنوان عوامل با شیوع کمتر در ورم پستان در نظر گرفته می‌شوند، همانطور که در این مطالعه نیز میزان شیوع استرپتیوکوکوس آگالاكتیه و دیس آگالاكتیه ۱۹/۴ درصد به دست آمد (Widianingrum *et al.*, 2016).

انبوه آنتی بیوتیک‌ها توسط شرکت‌های داروسازی اشاره نمود (Handayani *et al.*, 2017).

استافیلوكوکوس 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 استافیلوكوکوس 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 تفیریک جدایه‌های استافیلوكوکوس اورئوس از سایر کوکسی‌های گرم مثبت، از جمله میکروکوکوس‌ها و استرپتوكوکوس‌ها و همچنین استافیلوكوکوس‌های غیراورئوس (مانند استافیلوكوکوس‌های کواگلولاز منفی) از روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی مانند PCR استفاده می‌شود. یکی از ژن‌های مورد استفاده برای تشخیص جنس و گونه استافیلوكوکوس 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 کیلو Daltonی است که در متابولیسم باکتری، سنتز دیواره سلولی و رشد باکتری در محیط کشت نقش دارد. همچنین مشخص شده است که موتاسیون و یا غیرفعال سازی این ژن باعث کاهش مقاومت به آنتی بیوتیک متی‌سیلین می‌شود؛

می‌تواند ناشی از تفاوت در منابع محیطی مختلف باشد. شیوع بالا ممکن است نشان‌دهنده آلودگی خاک منطقه یا مدفوع باشد. باکتری‌های کلی فرم از محیط اطراف مانند بستر آلوده، مواد دفعی یا آب آلوده سرچشم می‌گیرند. هنگامی که سرپستانک در تماس با محیط آلوده به ارگانیسم‌های کلی فرمی قرار می‌گیرد، به ویژه پس از شیردوشی، این عوامل وارد کanal Contreras & Rodriguez, 2011. بنابراین، ارتقای بهداشت و پیشگیری از خواهیدن 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 آنتی بیوتیکی صد در صدی نسبت به جنتامایسین هستند. یافه‌های مطالعه ما با نتایج حاصل از مطالعه Costa (2008) مطابقت دارد. این محقق مشاهده کرد که آمینو گلیکوزیدها و سولفونامیدها دارای اثرات ضد میکروبی کمتری در برابر اشرشیا کلی هستند. نتایج این مطالعه بیانگر ایجاد مقاومت به آنتی بیوتیک‌های پر کاربرد مانند پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین و تا حدی لینکومایسین بود که مطالعات مشابه انجام شده 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 آنتی بیوتیک‌ها، در مناطق گوناگون، متفاوت است که علت آن را می‌توان به مقدار و روش استفاده از آنتی بیوتیک‌ها 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 تک دارویی، سهل‌انگاری در روند درمان و فروش

داده شده است. بررسی رویکردهای غیر آنتی بیوتیکی روشی Touza-Otero *et al.*, 2024). اختلافات مشاهده شده در حساسیت باکتری های جدا شده به آنتی بیوتیک ها را می توان با الگوی متفاوت مصرف آنتی بیوتیک در درمان ورم پستان برطرف کرد (Esrafili *et al.*, 2023; Panchal *et al.*, 2024).

### نتیجه گیری

محصولات لبنياتی از جمله شیر می توانند به عنوان عامل انتقال باکتری استافیلکوکوس اورئوس به انسان عمل کنند. افزایش روزافزون تعداد سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک در شیر باعث گسترش تحقیقات برای جستجوی ترکیبات ضد میکروبی جدید و همچنین جایگزین های مناسب برای آنتی بیوتیک ها شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که شیوع ورم پستان تحت بالینی حدود ۶۷ درصد بود. توزیع شایع ترین باکتری های جدا شده از نمونه های شیر عبارت بود از: استافیلکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، استافیلکوکوک کواگولاز منفی، استرپتوکوکوس آگالاكتیه، استرپتوکوکوس دیس آگالاكتیه و انتروباکتر.

### تضاد منافع

تضاد منافعی بین نویسندها وجود ندارد.

بنابراین *femA* به عنوان یک عامل مقاومت به متی سیلین نیز شناخته شده است. میزان بالای مقاومت به پنی سیلین در جدایه های استافیلکوکوس اورئوس اخذ شده از موارد ورم پستان استان همدان نشان داد که آنتی بیوتیک پنی سیلین نباید به عنوان آنتی بیوتیک انتخابی جهت درمان گاو های مبتلا به ورم پستان بالینی استفاده شود. همچنین با توجه به امکان انتقال عوامل مسبب ورم پستان به انسان از طریق شیر، حضور جدایه های دارای مقاومت به آنتی بیوتیک های انسانی از جمله آزیتروماسین، متی سیلین و ونکوماسین بسیار حائز اهمیت بوده و نیازمند توجه جدی است (Sharifi *et al.*, 2022). افزایش روزافزون تعداد سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک و نگرانی ها در مورد باقیمانده آنتی بیوتیک ها در مواد غذایی از جمله شیر باعث گسترش تحقیقات برای جستجوی ترکیبات ضد میکروبی جدید و همچنین جایگزین های مناسب برای آنتی بیوتیک ها شده است. با توجه به سابقه تاریخی استفاده از گیاهان دارویی و اسانس آنها در درمان بیماری ها، اسانس های گیاهی به علت داشتن اثرات ضد میکروبی وسیع علیه میکرووار گانیسم ها و عوارض جانبی کمتر نسبت به آنتی بیوتیک ها، جایگزین های مناسبی برای آنتی بیوتیک ها هستند. در گاوداری های ارگانیک به علت ممنوعیت استفاده از آنتی بیوتیک ها، ورم پستان یک مشکل جدی محسوب می شود و تقاضای زیادی برای داروهای ضد میکروب طبیعی مانند اسانس های گیاهی وجود دارد (Rahchamani *et al.*, 2023).

از آنجایی که عفونت های باکتریایی به عنوان عامل اصلی ورم پستان گاوی شناخته می شوند، آنتی بیوتیک ها برای دهه ها پایه اصلی درمان بوده اند. حجم وسیعی از آنتی بیوتیک های مورد استفاده در صنایع شیر، به کنترل و درمان ورم پستان اختصاص

## 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., Mornignat 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

- 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 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

- 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.
- 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 Almeida Queiroz SR., Godoy SHS.,

- 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.



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

Daryoush Behzadpour<sup>1\*</sup>, Reza Biniaz<sup>2</sup>, Kaveh Madhoush<sup>3</sup>, Behzad Kaviani<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Assistant Prof., Department of Veterinary Medicine, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

<sup>2</sup>M.Sc., Department of Veterinary Medicine, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

<sup>3</sup>Technical Manager of Health Monitoring System Laboratory, Rasht, Iran

<sup>4</sup>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.

## \* Corresponding Author

Assistant Prof., Department of Veterinary Medicine, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.

E-mail: [dbehzadpour@gmail.com](mailto:dbehzadpour@gmail.com), Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2630-7356>