بررسی فراوانی بالینی و تحت بالینی و سنجش کمترین غلظت آنتی بیوتیکی جلوگیری کننده از رشد (MIC) استافیلوکوکوس آرئوس و اشریشیا کلی جدا شده از اورام پستان گاوان

دکتر عبداله حسین خان ناظر[1]* دکترمحمدرضا سرمدی[2]

دریافت مقاله: ۱۸آذرماه ۱۳۸۲
پذیرش نهایی: ۲۰ مردادماه ۱۳۸۳

هدف: هدف ازانجام این مطالعه بررسی فراوانی اورام پستانی بالینی وتحت بالینی در گاوان وسنجش کمترین غلظت آنتی بیوتیکی جلوگیری کننده از رشد باکتری‌های اصلی مولد این بیماری (Staphylococus aureus, Eschrichia coli) بود.

حیوانات: سیصد وسی وهشت رأس گاو از هشت دامداری.

روش: ۱۳۵۲ نمونه شیر از ۳۳۸ گاو در ۸ دامداری جمع آوری گردید. سپس آزمایش CMT بر روی هر نمونه شیر انجام می‌شد و در صورت مثبت بودن جهت انجام باکتریولوژی به آزمایشگاه انتقال داده می‌شد. درآزمایشگاه بعد از جداسازی و تشخیص باکتری‌ها آزمایش جهت سنجش کمترین غلظت آنتی بیوتیکی جلوگیری کننده از رشد باکتری‌ها (MIC) انجام می‌گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: مطالعه توصیفی.

نتایج: در این مطالعه حداقل غلظت ممانعت کننده ازرشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) آنتی بیوتیکهای کلرامفنیکل، سفالکسین، آموکسی سیلین، آمپی سیلین، پنی‌سیلین، تتراسیکلین، استرپتومایسین، انروفلوکساسین وجنتامایسین برروی ۲۰۰ باکتری شامل ۱۱۸ سویه استافیلوکوکوس آرئوس و ۸۲ سویه اشریشیا کلی جداشده ازاورام پستان مورد بررسی قرارگرفت. میزان شیوع ورم پستان بالینی وتحت بالینی به ترتیب ۶/۸ و ۶۷/۵ درصد بود. آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که صد درصد باکتری‌ها ازهردوگروه به پنی‌سیلین مقاوم وصد درصد این باکتری‌ها نسبت به جنتامایسین وانروفلوکساسین حساس بودند. برای اشریشیا کلی حداقل غلظت ممانعت کننده ازرشد بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم درمیلی لیتر برای آنتی بیوتیک‌های کلرامفنیکل، سفالکسین، آموکسی سیلین، آمپی سیلین، پنی‌سیلین، تتراسیکلین، استرپتومایسین، جنتامایسین وانروفلوکساسین به ترتیب ۱۱/۰، صفر، ۱۲/۲، ۲۰/۷، ۱۰۰، ۲۲، ۱۵/۹، صفر، وصفردرصد بود. برای استافیلو کوکوس آرئوس این میزان (MIC>100 µg/ml) برای آنتی بیوتیک‌های ذکرشده به ترتیب برابر با ۱۵/۳، صفر، ۳۰/۳، صفر، ۱۰۰، ۳۸/۱، ۴۸/۳، صفر، وصفردرصد به‌دست‌آمد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۴، دوره ۶۰، شماره ۳، ۲۵۲ - ۲۴۷.

واژه‌های کلیدی: ورم پستان، مقاومت‌های آنتی بیوتیکی، MIC.

ورم پستان یکی از بیماریهای مهم درگاو شیری وازعوامل عمده ضرر و زیان اقتصادی درصنعت پرورش گاو می‌باشد. عوامل مستعد کننده‌ای درگاوداریها وجود دارند که زمینه را برای نفوذ میکروارگانیسمها خصوصاً باکتری‌ها ی بیماریزا در بافت پستانی فراهم می‌نمایند. عدم مدیریت صحیح، تمیزنبودن جایگاه و بستردام خصوصاً هنگام زایمان وپس ازآن و از همه مهمترعدم رعایت

۱) گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.
۲) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.
*) نویسنده مسؤول: nazer@hafez.shirazu.ac.ir

Prevalence of clinical and subclinical mastitis, antibiotic resistance and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) in staphylococus aureus and *Escherichia coli* isolated from cases of Bovine mastitis.

Nazer, A.H.K.,[1] Sarmadi, R.[2]

[1]Department of Food Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz - Iran. [2]Graduated from School of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz - Iran.

Objective: To examine the prevalence of clinical and subclinical bovine mastitis and determination of minimum inhibitory cocentration (MIC) in the original bacteria (such as staphylococus aureus(*S.aureus*) and *Escherichia coli*(*E. coli*) responsible for this disease.

Animals: Three hundred thirty eight cows from 8 herds.

Design: Cross sectional study

Statistic analysis: Descriptive study.

Procedure: Milk samples were collected from 1352 quarters of 338 cows in eight farms at the morning milking. California mastitis test (CMT) was carried out on each sample. Isolation, identification of bacteria and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) were carried out in the laboratory.

Results: The MIC and MBC of antibiotics (Chloramphenicol, Cephalexin, Amoxicillin, Ampicillin, Tetracycline, Streptomycin, Enrofloxacin, Gentamicin) were carried out against 200 bacterial isolates including 118 E. coli and 82 S. aureus isolated from bovine mastitis. Antimicrobial susceptibility testing showed that all the isolates were sensitive to Gentamicin and Enrofloxacin and resistant to Penicillin. The occurrence of clinical and subclinical mastitis were 6.80 and 67.45 percent in herds, respectively. While the MIC values higher than 100 µg/ml for 9 antibiotics (Chloramphenicol, Cephalexin, Amoxicillin, Ampicillin, Penecillin, Tetracycline, Streptomycin, Enrofloxacin, Gentamicin) against E.coli were 11.0, 0, 12.2, 20.7, 100, 22, 15.9, 0 and 0 %, these values against S.aureus were 15.3, 0, 30.3, 0, 100, 38.1, 48.3, 0 and 0 %, respectively. On the other hand, while, the MBC levels for these antibiotics against E.coli were 40.2, 19.5, 96.3, 48.7, 100, 74.4, 29.3, 0 and 0% these values against S. aureus were 46.6, 13.5, 84.7, 100, 100, 100, 89, 0%, respectively. ***J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 60,3:247-252,2005.***

Keywords: bovine mastitis, antibiotic resistance, MIC

Corresponding author's email: nazer@hafez. Shirazu.ac.ir

اصول بهداشت به هنگام شیردوشی و استفاده نادرست ازماشین شیردوشی ازعوامل مستعدکننده می‌باشند.

دربعضی ازکشورها رعایت بهداشت درزمان شیردوشی و به‌کارگیری آنتی بیوتیک موارد ورم پستان را تقلیل داده است ولی حتی با وجود بهترین برنامه‌های پیشگیری کننده نیزورم پستان درگله‌های گاوشیری وجود دارد(۶). درمواردی به کارگیری آنتی بیوتیک‌ها جهت درمان گاوهای مبتلا موثرنبوده واین به دلیل نبودن فرهنگ صحیح درمصرف داروهای ضدمیکربی و استعمال دوزهای ناقص است که منجربه بروز سویه‌های مقاوم باکتریایی می‌شود (۱۴). ایجاد مقاومت باکتریایی در مقابل آنتی بیوتیک‌ها ازاین جهت مهم است که دربسیاری موارد درهنگام بروز بیماری و زمانی که درمان با آنتی بیوتیک الزامی‌است، میکروارگانیسمهای مقاوم شده به آنتی بیوتیک پاسخ نداده و درمان بیماری با شکست مواجه می‌شود. هرچه مقاومت دارویی باکتری‌ها افزایش یابد، حلقه محاصره اطراف آنتی بیوتیک‌ها تنگ‌تر می‌شود و روزی خواهد رسید که آنتی بیوتیک‌های موجود پاسخگوی عفونتهای متداول هم نخواهدبود(۱۳). برای جلوگیری ازایجادمقاومت آنتی بیوتیکی، آزمایش تعیین حساسیت برای انتخاب آنتی بیوتیک مناسب می‌تواند موثرباشد. یکی ازاین آزمایشات که دارای دقت بالایی است، آزمایش تعیین حساسیت میکروارگانیسمها توسط لوله یا تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) می‌باشد(۳).

اهداف این تحقیق را می‌توان به طورخلاصه به صورت ذیل بیان داشت:

الف- شناسایی گاوهای شیری مبتلا به ورم پستان بالینی و تحت بالینی درگاوداریهای اطراف شیرازبه روش CMT (California Mastitis Test).

ب- جداسازی استافیلوکوکوس آرئوس و اشریشیاکلی که ازعوامل مولد و مهم درایجادورم پستان درگاوها می‌باشند.

ج- سنجش کمترین غلظت جلوگیری کننده ازرشد آنتی بیوتیک‌ها (MIC) برروی استافیلوکوکوس و اشریشیاکلی جداشده ازورم پستان

مواد وروش کار

نمونه گیری هرروزصبح و دراولین شیردوشی صورت می‌گرفت. ابتدا پستان گاوهابا آب تمیزشسته وسپس خشک می‌گردید وبوسیله پنبه آغشته به الکل، سرپستانک‌ها به طورکامل ضدعفونی شده وابتدا چند دوشش اولیه دور ریخته می‌شد و سپس آزمایش CMT برروی هرنمونه شیر برابر توصیه و دستورالعمل (American Public Health Association 1974) انجام می‌گرفت. سپس مقدار ۱۰ میلی لیترشیردرشیشه درب دار استریل جمع آوری و درکناریخ به دانشکده حمل می‌شد.

درزمانی که هرگاو مورد آزمایش CMT قرار می‌گرفت علائم بالینی نظیر قرمزی پوست، سفت بودن نسج پستان و یا دیگرعلائم ثبت می‌گردید. اگر پستان دام گرم، قرمزودردناک بود، ورم پستان بالینی مورد نظرقرار می‌گرفت.

نمونه‌هایی که براساس آزمایش CMT مثبت (+ ۲ به بالا) تشخیص داده می‌شدند مورد آزمایش باکتریولوژیک قرار می‌گرفتند. جداسازی وتشخیص گونه‌های باکتری برطبق روشهای:

Edward and Ewing (1998) و Baron and Finegold (2001) انجام پذیرفت(۵،۷).

تهیه رقت مشخص ازباکتری مورد استفاده درتحقیق: چند پرگنه ازباکتری مورد آزمایش راازروی محیط اگارمغذی توسط لوپ استریل برداشته ودرمحیط آبگوشت برین - هارت - اینفیوژن کشت داده وبه مدت لازم درگرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرارداده تا رشد باکتری با کدورت استاندارد مک فارلند ۰/۵ مطابقت نماید. متعاقباً رقت یک به ۲۰۰ از کشت باکتری تهیه می‌گردید (۰/۱ میلی لیتراز کشت اولیه به ۱۹/۹ میلی لیتراز محیط مایع مولرهینتون اضافه می‌شد).

تهیه رقتهای متوالی ازآنتی بیوتیک‌های مورد استفاده درتحقیق: ابتدا آنتی بیوتیک‌های مورد نظردرحلالهای ویژه خود حل شده وسپس از هرآنتی بیوتیک غلظت ۶۴ میلی‌گرم درمیلی لیتر (۶۴۰۰۰ میکروگرم درمیلی‌لیتر) ودرمحیط آبگوشت مولر - هینتون به نسبت یک به ۱۰ رقیق کرده که غلظت اولیه آنتی بیوتیک مورد استفاده ۶/۴ میلی‌گرم درمیلی لیتر (۶۴۰۰ میکروگرم درمیلی‌لیتر) شود. سپس برای هرنمونه آنتی بیوتیک خاص، ۱۳ لوله آزمایش استریل و خشک در داخل راک چیده و مقدار یک میلی لیتر محیط آبگوشت مولر - هینتون درلوله‌های شماره ۲ تا ۱۰ ولوله‌های شماره ۱۱ و ۱۳ ریخته و مقدار ۲ میلی‌لیترمحیط آبگوشت مولر - هینتون درلوله‌های شماره ۱۲ ریخته، سپس یک میلی لیتراز آنتی بیوتیک مورد نظررا به لوله‌های شماره ۱۲ اضافه و پس از آن یک میلی لیتر از آنتی بیوتیک مورد نظربه لوله‌های شماره ۱، ۲ و ۱۳ اضافه می‌گردید. پس ازمخلوط نمودن، یک میلی لیتراز لوله شماره ۲ برداشته وبه لوله بعدی اضافه کرده واز لوله سوم به لوله بعدی واینکاررا تا لوله شماره ۱۰ ادامه داده ویک میلی لیترآخراز لوله شماره ۱۰ دورریخته می‌شد (دراین مرحله غلظت آنتی بیوتیک دراولین لوله ۶۴۰۰ میکروگرم درمیلی لیترو درلوله شماره ۱۰، ۱۲/۵ میکروگرم درمیلی‌لیتربود). در پایان یک میلی لیتراز رقت یک به ۲۰۰ کشت باکتری مورد نظررا به لوله‌های شماره ۱ تا ۱۱ اضافه کرده و پس ازمخلوط کردن به مدت یک شب دردمای ۳۷-۳۵ درجه سانتیگراد گرمخانه قرارمی‌گرفت (لوله شماره ۱۱ به عنوان کنترل میزان باکتری، لوله شماره ۱۲ به عنوان کنترل محیط آبگوشت مولر - هینتون و لوله شماره ۱۳ به عنوان کنترل آنتی بیوتیک درنظرگرفته شد). سپس کدورت لوله‌ها با لوله‌های کنترل مقایسه می‌گردید (پس ازافزودن رقت ۱ به ۲۰۰ کشت باکتری، غلظت آنتی بیوتیک دراولین لوله ۳۲۰۰ میکروگرم درمیلی‌لیترودرلوله شماره ۱۰، ۶/۲۵ میکروگرم درمیلی‌لیتربود).

برای تعیین حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC)، ازکلیه لوله‌های شفاف برروی محیط مکانکی آگارکشت داده می‌شد تا MBC نیزبرای هرنمونه باکتری و ۴ آنتی بیوتیک مورد نظربه‌دست آید.

چگونگی تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کننده ازرشد (MIC) وحداقل غلظت‌کشنده باکتری: (MBC) جهت تعیین MIC، آخرین لوله‌ای که باکتری درآن رشد نکرده وشفاف مانده بود (دارای کمترین مقدارآنتی بیوتیک)، به عنوان MIC شناخته می‌شد. برای تعیین MBC آخرین لوله‌ای که (دارای کمترین مقدارآنتی بیوتیک) باکتری‌های تلقیح شده به آن، کشته شده بودند و

نتیجه کشت آن برروی آگارمکانکی منفی بود، به عنوان MBC مطلق درنظرگرفته می‌شد(۹).

نتایج

دراین مطالعه تعداد ۳۳۸ رأس گاوشیری درمناطق مختلف اطراف شیراز (۸گاوداری) مورد مطالعه قرارگرفت. ازتعداد کل ۳۳۸ رأس گاوشیری مورد آزمایش، ۲۲۸ رأس (۶۷/۵درصد) مبتلا به فرم ورم پستان تحت بالینی و ۲۳ رأس (۶/۸درصد) مبتلا به فرم بالینی ورم پستان بودند (جدول۱).

دراین مطالعه شیرکارتیه‌هایی که ازنظر CMT مثبت تشخیص داده شده بودند از نظر باکتریولوژی نیزمورد بررسی قرار گرفتند. سویه‌های استافیلوکوکوس آرئوس جدا شده ۱۱۸ نمونه (۵۹ درصد) و تعداد سویه‌های اشرشیاکلی جدا شده ۸۲ نمونه (۴۱ درصد) بود. علاوه براین دوگونه باکتری، ارگانیسمهای دیگری ازجمله استرپتوکوکها (غیربیماریزا)، استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی، پروتئوس و کلبسیلا نیزجدا شدند که نظربه کم اهمیت بودن آنها ازنظرتولید ورم پستان مورد مطالعه بیشترقرارنگرفتند.

حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در مورد اشرشیاکلی برای آنتی بیوتیکهای مورد آزمایش در جدول۲ مشاهده می‌گردد. همچنین MIC کمتر از ۱۰۰ میکروگرم درمیلی‌لیتر جهت استافیلوکوکوس آرئوس در جدول۴ آمده است. میزان MBC در مورد اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس آرئوس در جداول ۳ و ۵ مشاهده می‌گردد.

با توجه به نتایج موجود در جداول ۲ و ۳، MIC بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم درمیلی لیتر برای ۹ آنتی بیوتیک، کلرامفنیکل، سفالکسین، آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین، تتراسایکلین، استرپتومایسین، انروفلوکساسین و جنتامایسین، در برابر اشریشیاکلی به ترتیب معادل ۱۱، صفر، ۱۲/۲، ۲۰/۷، ۱۰۰، ۲۲، ۱۵/۹، صفر و صفر درصد و همچنین میزان MBC بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم درمیلی‌لیتر برای همان آنتی‌بیوتیکها برای باکتری اشریشیاکلی به ترتیب معادل ۴۰/۲، ۱۹/۵، ۹۶/۳، ۴۸/۷، ۱۰۰، ۷۴/۴، ۲۹/۳، صفروصفردرصدمی‌باشد.

با توجه به نتایج ثبت شده در جداول ۴ و ۵ میزان MIC بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم درمیلی‌لیتر مربوط به آنتی بیوتیک‌های ذکرشده برای استافیلوکوکوس آرئوس به ترتیب ۱۵/۳۰، ۰، ۳۰/۳، صفر، ۱۰۰، ۳۸/۱، ۴۸/۳، صفر و صفر درصد و میزان MBC بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر مربوط به آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در برابر استافیلوکوک آرئوس به ترتیب برابر ۴۶/۶، ۱۳/۵، ۸۴/۷، ۱۰۰، ۱۰۰، ۸۹، صفروصفردرصدمی‌باشد.

بحث

برای تعیین حساسیت گونه‌های مختلف باکتریایی نسبت به آنتی بیوتیک‌های رایج یکی از روشهای آزمایشگاهی اندازه‌گیری میزان کمترین غلظت مهارکننده رشد باکتری توسط آنتی بیوتیک است. با انجام این آزمایش علاوه برمشخص نمودن داروی مؤثرروی نمونه باکتری مورد نظر با تعیین کمی

جدول۱- تعداد و درصد گاوان مبتلا به ورم پستان بالینی و تحت بالینی.

گله	محل دامداری مراجعه شده	تورم پستان تحت بالینی				تورم پستان بالینی
		تعدادگاوان		تعدادکارتیه‌ها		
		آزمایش شده	CMT(+)	آزمایش شده	CMT(+)	
۱	زرقان	۸۵	۶۳	۳۴۰	۱۸۴	۵
۲	اطراف مرودشت	۶۰	۴۵	۲۴۰	۱۶۳	۴
۳	باغان	۳۵	۲۶	۱۴۰	۹۶	۲
۴	کوار	۴۷	۳۲	۱۸۸	۷۸	۳
۵	فتح‌آباد	۳۳	۲۳	۱۳۲	۸۹	۳
۶	اکبرآبادکوار	۳۵	۱۶	۱۴۰	۴۳	۲
۷	ولیعصر	۲۶	۱۶	۱۰۴	۶۱	۲
۸	دودج	۱۷	۷	۶۸	۲۳	۲
جمع		۳۳۸	(۶۷/۵) ۲۲۸	۱۳۵۲	(٪۵۴/۵) ۷۳۷	(٪۶/۸) ۲۳

حساسیت باکتری به آنتی بیوتیک مورد آزمایش، از ایجاد مقاومتهای آنتی بیوتیکی نیز تا حد زیادی می‌توان جلوگیری نمود(۱۱). در این تحقیق مجموعاً تعداد ۳۳۸ رأس گاوشیری درمناطق مختلف اطراف شیراز مورد آزمایش CMT قرار گرفتند که از این تعداد ۲۵۱ رأس آلودگی را نشان دادند. از این میان ۲۳ رأس ورم پستان بالینی و ۲۲۸ رأس ورم پستان تحت بالینی داشتند (جدول۱).

بر اساس این بررسی بیشترین فرم ورم پستان در مناطق مختلف اطراف شیراز از نوع ورم پستان تحت بالینی (۶۷/۵درصد) بود که عمدتاً به دلیل عدم رعایت نکات بهداشتی، شیردوشی نادرست وعدم آگاهی دامداران ونبودبرنامه صحیح جهت کنترل و ریشه کنی این گونه ورم پستان می‌باشد. طی تحقیقاتی که توسط Boxi و Sing درسال ۱۹۸۰ در هندوستان انجام شد میزان ورم پستان تحت بالینی در ۵۰ رأس گاوشیری ۵۴درصد گزارش شد(۱۶). همچنین طی گزارشات Gedak و همکاران در سال ۱۹۸۹ میزان ورم پستان تحت بالینی حدود ۶۰ درصد بوده است(۶). قراگزلو و همکاران میزان ورم پستان بالینی و تحت بالینی را در گاوداریهای صنعتی شهرستان کرج در یک مطالعه مشابه (توصیفی ـ تحلیلی) برابر ۵۶/۲درصد گزارش نمودند(۱).

ازنمونه‌های آلوده بعداز جداسازی و خالص سازی باکتری، تعداد ۱۱۸ سویه باکتری استافیلوکوکوس آرئوس (۵۹درصد) و تعداد ۸۲ سویه باکتری اشریشیاکلی (۴۱درصد) جداگردید. در تحقیقی که توسط Mishra و همکاران درسال ۱۹۹۶ در هندوستان انجام شد ۳۴/۱ درصد از باکتری‌های جداشده از ورم پستان استافیلوکوکوس (۲۲/۷درصد آنها کوآگولاز مثبت و ۱۱/۴ درصد کوآگولاز منفی) بودند(۱۰). میزان زاده و همکاران نیز در مطالعه بر روی عوامل مولد ورم

جدول ۲- در صد و میزان MIC (mg/ml) (داخل پرانتز) مربوط به آنتی بیوتیک‌های مختلف علیه باکتری اشریشیاکلی.

غلظت آنتی بیوتیک ¬نوع آنتی بیوتیک¯	<۱۲/۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۸۰۰	۱۶۰۰	۳۲۰۰	۶۴۰۰	>۶۴۰۰
کلرامفنیکل		۵۷/۳ (۴۷)	۳۱/۷ (۲۶)						۱۱/۰ (۹)			
سفالکسین		۱۷/۱ (۱۴)	۳۲/۹ (۲۷)	۴۲/۷ (۳۵)	۷/۳ (۶)							
آموکسی سیلین		۳۴/۱ (۲۸)	۳۱/۷ (۲۶)	۱۳/۴ (۱۱)	۸/۵ (۷)	۱/۲ (۱)		۶/۱ (۵)			۴/۹ (۴)	
آمپی سیلین		۴۰/۲ (۳۳)	۲۶/۸ (۲۲)	۷/۳ (۶)	۴/۹ (۴)	۷/۳ (۶)	۱/۲ (۱)		۱۲/۲ (۱۰)			
پنی سیلین جی							۱۸/۳ (۱۵)	۲۰/۷ (۱۷)	۱۳/۴ (۱۱)	۹/۸ (۸)	۳۷/۸ (۳۱)	
تتراسیکلین		۴۷/۶ (۳۹)	۹/۸ (۸)	۹/۸ (۸)	۱۱/۰ (۹)	۳/۷ (۳)	۱۸/۳ (۱۵)					
استرپتو مایسین		۴۲/۹ (۳۵)	۱۵/۹ (۱۳)	۹/۸ (۸)	۱۵/۹ (۱۳)	۳/۷ (۳)	۱۲/۲ (۱۰)					
انروفلو کساسین	۱۰۰ (۸۲)											
جنتامایسین	۱۰۰ (۸۲)											

جدول ۳- درصد و میزان MBC (mg/ml) (داخل پرانتز) مربوط به آنتی بیوتیک‌های مختلف علیه باکتری اشریشیاکلی.

غلظت آنتی بیوتیک ¬نوع آنتی بیوتیک¯	<۱۲/۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۸۰۰	۱۶۰۰	۳۲۰۰	۶۴۰۰	>۶۴۰۰
کلرامفنیکل		۴۰/۲ (۳۳)	۱۴/۶ (۱۲)	۳/۷ (۳)	۱/۲ (۱)	۴/۹ (۴)	۱۳/۴ (۱۱)	۱۱/۰ (۹)			۱۱/۰ (۹)	
سفالکسین		۶ (۵)	۲۲/۰ (۱۸)	۲۳/۲ (۱۹)	۲۹/۳ (۲۴)	۸/۵ (۷)	۱۱/۰ (۹)					
آموکسی سیلین					۳/۷ (۳)	۹/۸ (۸)	۱۸/۳ (۱۵)	۲۵/۶ (۲۱)	۳۴/۱ (۲۸)	۳/۷ (۳)	۴/۹ (۴)	
آمپی سیلین		۲۵/۶ (۲۱)	۹/۸ (۸)	۴/۹ (۴)	۱۱/۰ (۹)	۸/۵ (۷)	۱۸/۳ (۱۵)	۳/۷ (۳)	۴/۹ (۴)	۱/۲ (۱)	۱۲/۲ (۱۰)	
پنی سیلین جی								۱۲/۲ (۱۰)	۲۲/۰ (۱۸)	۱/۲ (۱)	۶۴/۶ (۵۳)	
تتراسیکلین		۲۵/۶ (۲۱)				۱۲/۲ (۱۰)	۱۷/۱ (۱۴)	۱۹/۵ (۱۶)	۲۵/۶ (۲۱)			
استرپتو مایسین		۳۰/۵ (۲۵)	۱۳/۴ (۱۱)	۱۱/۰ (۹)	۱۵/۹ (۱۳)	۸/۵ (۷)	۴/۹ (۴)	۳/۷ (۳)	۱۲/۲ (۱۰)			
انروفلو کساسین	۱۰۰ (۸۲)											
جنتامایسین	۱۰۰ (۸۲)											

پستان در گاو در شهرستان اصفهان میزان آلودگی را به استافیلوکوکوس ۳۱/۶۱ درصد و اشریشیاکلی را ۲۷/۹۴ درصد گزارش نمودند(۲).

نتایج به‌دست آمده در این تحقیق ممکن است با سایر نتایجی که در نقاط دیگر به‌دست می‌آید و با تحقیقاتی که در طی زمانهای بعد صورت می‌گیرد متفاوت باشد. یکی از دلایل این اختلافات ممکن است در اثر ایجاد مقاومت کروموزومی در سویه‌ها و یا انتقال فاکتور مقاومت بین گونه‌های باکتریایی باشد که نهایتاً باعث ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های مورد نظر می‌شود(۱۵).

در مورد حساس بودن دو باکتری استافیلوکوکوس آرئوس و اشریشیاکلی نسبت به انروفلوکساسین و جنتامایسین می‌توان دلیل آن را استفاده ناچیز از این آنتی بیوتیک‌ها در گاوداریها و قیمت بالای داروهای ذکر شده به عنوان آنتی بیوتیک در مقایسه با آنتی بیوتیک‌هایی چون اکسی تتراسیکلین، پنی سیلین، استرپتومایسین، و... و قدرت بالای آنتی بیوتیک‌های ذکر شده دانست. علاوه بر این، مقاومت در برابر جنتامایسین به واسطه جهش و به آهستگی در طی چند مرحله بروز می‌کند(۱۸).

با توجه به مصرف کم آنتی بیوتیک‌های آمپی سیلین و آموکسی سیلین در حیوانات، مقاومت بالای استافیلوکوکوس‌ها نسبت به این آنتی بیوتیک‌ها می‌تواند به دلیل گسترش بالای باکتری‌های مولد آنزیم بتالاکتاماز در طبیعت باشد. همچنین احتمال انتقال سویه‌های مقاوم از حیوانات مختلف به هم و به انسان وجود دارد(۱۲).

در سال ۱۹۷۱ Smith گزارش کرد که اشریشیاکلی مقاوم جدا شده از حیوانات فاکتور مقاومت را به اشریشیاکلی‌های دستگاه گوارش انسان انتقال داده و باعث افزایش تعداد میکروارگانیسم‌های مقاوم در لوله گوارشی انسان می‌شود(۱۷).

Gedak در سال ۱۹۸۹ اعلام کرد که انروفلوکساسین نسبت به اشریشیاکلی جدا شده از ورم پستان گاوی فعالیت بالایی دارد، که این فعالیت ضد باکتریایی نسبت به فلومکوئین‌ها شدیدتر است. با این حال مقاومتهایی در سویه‌های مختلف استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه و بتاهمولیتیک استرپتوکوک نسبت انروفلوکساسین دیده شده است(۸).

در تحقیق حاضر در آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی به روش انتشار از دیسک، میزان مقاومت اشریشیاکلی به پنی سیلین ۱۰۰ درصد و نسبت به آنتی بیوتیک‌هایی نظیر کلرامفنیکل، سفالکسین، انروفلوکساسین و جنتامایسین بسیار پایین بود. همچنین در آزمایش MIC این میزان به صورت قابل قبولی موازی با روش انتشار از دیسک می‌باشد. لازم به ذکر است که استافیلوکوکهای جدا شده در این مطالعه دارای مقاومت ۱۰۰ درصد نسبت به پنی سیلین بوده ولی میزان مقاومت نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها کمتر بوده است. در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه و سایر تحقیقات انجام شده توسط دیگران نشان می‌دهد که مصرف داروهای ضد باکتریایی باعث افزایش میزان مقاومت دارویی در دامها می‌شود که در اثر مصرف فراورده‌های دامی توسط انسان و در اثر عدم رعایت اصول بهداشتی در هنگام تهیه و مصرف این فراورده‌ها ارگانیسمهای مقاوم در دستگاه گوارش انسان فاکتور مقاوم را به فلور طبیعی گوارشی منتقل کرده و در صورت بروز هر گونه بیماری مرتبط با این ارگانیسم‌ها، میزان دوز داروی مصرفی

جدول۴- در صد و میزان MIC (mg/ml) (داخل پرانتز) مربوط به آنتی بیوتیک‌های مختلف علیه باکتری استاف آرئوس.

غلظت آنتی بیوتیک / نوع آنتی بیوتیک	۱۲/۵>	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۸۰۰	۱۶۰۰	۳۲۰۰	۶۴۰۰	۶۴۰۰<
کلرامفنیکل		۵۰ (۵۹)	۱۴/۴ (۱۷)		۲۰/۳ (۲۴)		۱۵/۳ (۱۸)					
سفالکسین		۳۹/۸ (۴۷)	۲۴/۶ (۲۹)	۳۵/۶ (۴۲)								
آموکسی سیلین		۲۸/۰ (۳۳)	۱۵/۳ (۱۸)	۲/۵ (۳)	۲۸/۸ (۳۴)	۹/۳ (۱۱)	۱/۷ (۲)	۱۲/۷ (۱۵)				
آمپی سیلین		۵۰/۸ (۶۰)	۲۶/۳ (۳۱)	۲۲/۹ (۲۷)								
پنی سیلین جی					۱۲/۷ (۱۵)	۱۱/۰ (۱۳)	۱۹/۵ (۲۳)	۱۶/۱ (۱۹)	۲۷/۱ (۳۲)	۱۳/۶ (۱۶)		
تتراسیکلین		۲۲/۹ (۲۷)		۲۳/۷ (۲۸)	۱۵/۳ (۱۸)	۲۰/۳ (۲۴)	۱۷/۸ (۲۱)					
استرپتو مایسین				۳۲/۲ (۳۸)	۱۶/۵ (۲۳)	۱۸/۸ (۲۱)	۱۱/۰ (۱۳)	۷/۶ (۹)	۱۱/۹ (۱۴)			
انروفلو کساسین	۱۰۰ (۱۱۸)											
جنتامایسین	۱۰۰ (۱۱۸)											

بالاتر رفته و علاوه بر صرف هزینه‌های گزاف، احتمال امکان بهبودی به دلیل ایجاد مقاومت میکروبی کم می‌شود. پس با مصرف صحیح و با مقادیر مناسب دارویی می‌توان از ایجاد مقاومت دارویی جدید جلوگیری به عمل آورد و از افزایش درصد مقاومت آنتی بیوتیکی کاست.

تشکر و قدردانی

هزینه مربوط به این تحقیق توسط شورای محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز تأمین گردیده که بدین وسیله قدردانی می‌شود.

جدول۵- در صد و میزان MBC (mg/ml) (داخل پرانتز) مربوط به آنتی بیوتیک‌های مختلف علیه باکتری استاف آرئوس.

غلظت آنتی بیوتیک نوع آنتی بیوتیک	۱۲/۵>	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۸۰۰	۱۶۰۰	۳۲۰۰	۶۴۰۰	۶۴۰۰<
کلرامفنیکل		۲۲/۹ (۲۷)	۱۱/۰ (۱۳)		۱۹/۵ (۲۳)	۱۸/۶ (۲۲)	۱۲/۷ (۱۵)	۱۵/۳ (۱۸)				
سفالکسین				۲۹/۷ (۳۵)	۵۶/۸ (۶۷)	۱۳/۶ (۱۶)						
آموکسی سیلین				۱۱/۰ (۱۳)	۱۶/۲ (۱۹)	۲/۵ (۳)	۱۴/۴ (۱۷)	۱۵/۳ (۱۸)	۱۸/۶ (۲۲)	۳۳/۹ (۴۰)		
آمپی سیلین								۵۶/۸ (۶۷)	۲۸/۰ (۳۳)	۱۰/۲ (۱۲)	۵/۱ (۶)	
پنی سیلین جی							۱۲/۷ (۱۵)	۸/۵ (۱۰)	۱۶/۱ (۱۹)	۱۴/۴ (۱۷)	۴۹/۲ (۵۸)	
تتراسیکلین						۷/۶ (۹)	۳۹/۸ (۴۷)	۱۵/۳ (۱۸)	۱۹/۵ (۲۳)	۱۷/۸ (۲۱)		
استرپتو مایسین					۱۱/۰ (۱۳)	۱۳/۶ (۱۶)	۲۱/۲ (۲۵)	۱۷/۸ (۲۱)	۱۲/۷ (۱۵)	۹/۳ (۱۱)	۱۴/۴ (۱۷)	
انروفلو کساسین	۱۰۰ (۱۱۸)											
جنتامایسین	۱۰۰ (۱۱۸)											

References

۱. قراگزلو، ف.، وجگانی، م.، عرفان منش، و باهنر، ع. (۱۳۸۰): ارزیابی بهداشت شیر و التهاب پستانی با استفاده از روشهای باکتریولوژی و شمارش سلولهای سوماتیک در گاوداری‌های صنعتی شهرستان کرج. نخستین همایش تخصصی صنعت شیر و فرآورده‌های آن. صفحه: ۲۸ - ۲۷.

۲. میران زاده، ه.، مصلی، س.، حیدری، ع. زاهدی، ن. و توسلی، ا. (۱۳۸۰): ارزیابی باکتری‌های جدا شده از شیرهای خام مشکوک به ورم پستان در گاو و اهمیت آن در انسان. نخستین همایش تخصصی صنعت شیر و فرآورده‌های آن. صفحه: ۲۶ - ۲۵.

3. American Public Health Association. (1974): Standard method for examination of dairy products. Thirteenth ed. APHA, New York, USA.
4. Balows, A. (1991): Current techniques for antibiotic susceptibility testing. Carlles, C. Thomas Pub. Springfield, PP: 63- 64.
5. Baron, E.J., Finegold, S.M. (2001): Baily and Scott, S. Diagnostic microbiology. 8th edition. The C.B. Mosby Company St. Louis, Baltimore, PP: 438-444.
6. Chanda, A. Roy, C. and Gaha, C. (1989): Studies on incidence of bovine mastitis, it's diagnosis, etiology an in vitro sensitivity of the isolated pathogens, Indian Vet. J. 66: 277-279.
7. Edwards, R. and Ewing, W.H. (1998): Identification of Enterobacteriacae, 6th edition. Burgess Publication Co., U.S.A.
8. Gedak, W. (1989): Antibacterial effect of new quinolines and nalidixic acid against bovine mastitis pathogens. Deutsche. Tierarztliche wochenschritt. 94: 545-548.
9. McDonald, J.S. and Anderson, A.J. (1981): Antibiotic sensitivity of S. aureus and CNS isolated from infected bovine mammary gland. Cornell Vet., 71: 391-396.
10. Mishra, P.R., Shidharth, B. and Hazari, P. (1996): Subclinical mastitis in goat with special reference to fungus. Indian J. Dairy Scie. 48: 209-210.

11. Nazer, A.H.K. and Safari, G.H. (1994): Bacterial flora from dead - in - shell chicken embryos and their drug resistance in Fars Province of Iran. Indian J. Anim. Sci. 64: 1006-1009.
12. Nazer, A.H.K. (1980): Transmissible drug resistance in E. coli isolated from poultry and their carcasses in Iran. Cornell Vet., 70: 365-371.
13. Ogawara, H. (1981): Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria, with special reference to beta-lactam antibiotics. Microbiol. Rev., 45: 591-601.
14. Rajangam, R.K., Suresh, R.V. Subramanian, M. and Balachandran, S. (1989): Antibiotic sensitivity of mastitis causing oragnisms. Indian Vet. J., 66: 272-273.
15. Schalm, O.W., Jain, R.C., Corrol, E.J. (1991): Bovine mastitis. 3rd edition. Philadilphia, Lea and Febiger. PP. 128-155.
16. Singh, K.B., and Boxi, K.K. (1980): Studies on the incidence and diagnosis of subclinical mastitis in animals. Indian Vet. J., 57: 723.
17. Smith, S.W. (1971): The effect of the use of antibacterial drug on the emergence of drug resistant bacteria in animal. Advance Sci. 15: 67.
18. Smith, B.P. (1993). Mechanisms of antimicrobial resistance and implication for epidemiology. Vet. Microb. 35: 235.