

بررسی علل و میزان شیوع ورم پستان تحت بالینی و ارتباط آن با شمارش سلول‌های سوماتیک در گاو میش‌های آذری

رضا وجدی حکم آباد^{*۱}، مهران فرهودی مقدم^۲، مجید محمد صادق^۳، حمید میرزایی^۴، منصور خاکپور^۵

۱- عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه، میانه- ایران.

۲- استادیار گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج- ایران.

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

۴- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز- ایران.

۵- استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز- ایران.

* نویسنده مسئول: Rezava jdi@gmail.com

دریافت مقاله: ۱ دی ۸۸، پذیرش نهایی: ۱۳ خرداد ۸۹

An Evaluation of Prevalence and Causes of Subclinical Mastitis and its Association with Somatic Cell Count in Azeri Buffaloes

Vajdi Hokmabad, R.^{1*}, Farhodi Mogaddam, M.², Mohammad Sadegh, M.³, Mirzaii, H.⁴, Khakpour, M.⁵

¹ Islamic Azad University, Miyaneh branch.

² Assistant Professor Department of clinical science, Veterinary faculty, Islamic Azad university, Karaj Branch, Karaj- Iran.

³ Assistant Professor Department of clinical science, Veterinary faculty, Islamic Azad university, Garmsar Branch, Garmsar- Iran.

⁴ Asisted Professor Department of Food Hygiene, Veterinary faculty, Islamic Azad university, Tabriz Branch, Tabriz- Iran.

⁵ Assistant Professor Department of Microbiology, Veterinary faculty, Islamic Azad university, Tabriz Branch, Tabriz- Iran.

Abstract

The aim of this study is to determine the bacterial causative agents and prevalence of subclinical mastitis in buffaloes and quarters of Tabriz Azeri ecotype and assess relationships between intramammary infections (IMI) and Somatic Cell Counts (SCCs). Quarter- based milk samples were collected randomly from 300 buffaloes. After CMT in farms, the samples were sent to lab for somatic cell counts. Also 150 samples were collected for bacterial culture and counts. 13.87% of quarters and 23.66% buffaloes had subclinical mastitis based on CMT, the sensitivity and specificity of CMT for infections with all bacteria and infections with major pathogens were 55% and 67.39%, 70% and 50% respectively. Coagulase-negative staphylococci (CNS) were the most common pathogens. Isolated bacteria significantly had no effects on mean SCC of infected quarters based on ANOVA test. But SCC and total bacterial count (TBC) of infected quarters were significantly higher than intact ones ($p < 0.05$) in T test. Based on results of current study prevalence of subclinical mastitis in Azeri ecotype is more like to Anatolian and Murrah buffaloes and CMT has acceptable sensitivity and specificity in diagnosis. The isolated bacteria from infected quarters are mostly as the same as dairy cattle but more probably coli forms are not very important in buffaloes subclinical mastitis. *Vet. Res. Bull.* 6,2:161-167, 2011.

Keywords: Buffalo, Subclinical mastitis, IMI, SCC, Milk bacterial culture.

چکیده

هدف از این مطالعه شناسایی علل باکتریایی و تعیین درصد گاو میش‌ها و کارتیه‌های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و ارتباط آن با SCC در شهرستان تبریز می‌باشد. بدین منظور تعداد ۳۰۰ راس گاو میش بطور تصادفی انتخاب و از چهار کارتیه آن‌ها نمونه شیر به شکل مجزا اخذ شد و پس از آزمایش CMT جهت تعیین تعداد SCC به آزمایشگاه ارجاع شد. همچنین تعداد ۱۵۰ نمونه جهت کشت افتراقی و شمارش کلی باکتریایی (TBC) اخذ گردید. بر اساس آزمایش ورم پستان کالیفرنایی (CMT) ۲۳/۶۶ درصد گاو میش‌ها و ۱۳/۸۷ درصد کارتیه‌ها مبتلا به ورم پستان تحت بالینی تشخیص داده شدند. حساسیت و ویژگی این آزمایش برای همه عفونت‌ها و عفونت با پاتوژن‌های اصلی بترتیب ۵۵ درصد و ۶۷/۳۹ درصد، ۷۰ درصد و ۵۰ درصد تعیین شد. بیشترین تعداد باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های شیر کارتیه‌های مبتلا به عفونت داخل پستانی (IMI) مربوط به استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی (CNS) بود. بر اساس آزمون آماری ANOVA اختلاف معنی داری در تاثیر نوع باکتری‌های مختلف جدا شده بر روی میانگین SCC مشاهده نشد، ولی بر اساس آزمون آماری T مستقل، شمارش سلولی و باکتریایی شیر بین کارتیه‌های سالم و عفونی دارای اختلاف معنی دار بود ($p < 0.05$). بر اساس یافته‌های این تحقیق میزان شیوع ورم پستان تحت بالینی در این گونه تقریباً مشابه با گونه آناتولیایی و مورا بوده و تست CMT دارای حساسیت و ویژگی قابل قبولی برای تشخیص آن می‌باشد. الگوی باکتریایی جدا شده از موارد عفونی تقریباً مشابه با گونه گاو بوده ولی به احتمال زیاد کلی فرم‌ها در ورم پستان تحت بالینی گاو میش حائز اهمیت چندانی نمی‌باشند. پژوهشنامه دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶، شماره ۲، ۱۶۷-۱۶۱.

واژه‌های کلیدی: گاو میش، ورم پستان تحت بالینی، عفونت‌های داخل پستانی، شمارش سلولی شیر، کشت باکتریایی شیر.



در گاو میش های اکوتیپ آذری در شهرستان تبریز انجام گرفت.

مقدمه

پرورش گاو میش بیشتر معطوف به آب و هوای گرم و مرطوب و یا معتدل است و بیش از ۶ درصد شیر دنیا را تامین می کند. طبق آخرین آمار (۱۳۷۸) جمعیت گاو میش در ایران ۵۲۱ هزار راس است که ۸۲ تن گوشت و ۱۲۲۴ تن شیر یعنی ۲/۸۱ درصد شیر و ۲۵ درصد گوشت کشور را تولید می کنند. جمعیت گاو میش استان آذربایجان شرقی ۱۰۹۶۰۴ راس برآورد شده است که از گونه رودخانه ای و اکوتیپ آذری می باشند.

اگرچه در مقایسه با گاو، ورم پستان در گله های کوچک شیری گاو میش بندرت اتفاق می افتد اما ممکن است در گله های بزرگ گاو میش تبدیل به یک معضل جدی شود (۳، ۸، ۳۱). معمولاً در شکل تحت بالینی ورم پستان، وضعیت پستان و ترشح شیر به ظاهر طبیعی می باشد اما تولید شیر و میزان ماده خشک آن کاهش و میزان لکوسیت ها و عوامل پاتوژن موجود در آن افزایش می یابد. افزایش تعداد سلول های سوماتیک (SCC) موجود در شیر بطور مستقیم توسط شمارش بادستگاه فوزوماتیک یا بطور غیرمستقیم توسط آزمایش ورم پستان کالیفرنایی (CMT) مشخص می شود که نشان دهنده حضور و اکنش های التهابی در شیر است (۱، ۲۴) و جهت تایید نهایی ورم پستان تحت بالینی از کشت شیر استفاده می شود.

کاهش تولید شیر در کارتیبه گاو مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بین ۹ تا حدود ۵۰ درصد برآورد گردیده است. این شکل ورم پستان در اغلب نقاط دنیا میزان وقوع بیشتری دارد و تقریباً در مقابل هر مورد ورم پستان کلینیکی ۴۰ مورد ورم پستان تحت کلینیکی وجود دارد (۲۴). اندک مطالعاتی که در زمینه ورم پستان تحت بالینی گاو میش انجام شده اغلب در کشورهای هندوستان و برزیل بوده است. در برزیل (۱۹۹۶) از یک مورد ورم پستان تحت بالینی در گاو میش های رودخانه ای، باکتری *Lactococcus garvieae* جدا شد (۳۰) که در گاو عامل ورم پستان نیست. در تحقیقی در ایالات ریودوژانیرو برزیل از موارد ورم پستان تحت بالینی موجود در گاوها، گوسفندان، بزها و گاو میش های منطقه، ۵ تیپ کلونی استاف آرتوس بدست آمده که در همه گونه های حیوانی مشابه بوده اند و پیشنهاد شده که در مقایسه با استاف آرتوسهای نشأت گرفته از انسان بجز یک کلونی، همگی مختص حیوانات می باشند (۲).

این مطالعه جهت شناسایی علل و تعیین درصد گاو میش ها و کارتیبه های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و ارتباط آن با SCC

مواد و روش کار

در این مطالعه جامعه آماری شامل گاو میش های ماده ی بالغ و شیرده شهرستان تبریز (حدود ۳۰۰۰ راس) می باشد که از بین آن ها بر اساس فرمول:

$$n = \frac{Nz^2P(1-P)}{(N-1)d^2 + z^2P(1-P)}$$

و بالحاظ $\alpha = 0.05$ ، $N = 3000$ ، $d = 0.05$ ، $P = 30\%$ تعداد ۳۰۰ راس گاو میش (۱۲۰۰ کارتیبه) به طور تصادفی جهت مطالعه انتخاب شدند. سن گاو میش ها بین ۲ تا ۱۵/۵ سال (متوسط ۶ سال)، دفعات زایمان آن ها تا ۱۳ بار (متوسط ۳/۳۱)، و وزن آن ها ۸۰۰-۲۵۰ کیلوگرم (متوسط ۴۳۵/۵ کیلوگرم) بود. همه گاو میش ها به لحاظ بالینی سالم و نمونه شیر اخذ شده دارای ظاهر طبیعی بود. متوسط تولید شیر گاو میش ها $(4/93 \pm 1/9)$ کیلوگرم در روز بود که در دو نوبت صبح و غروب دوشیده می شدند. در بیشتر موارد آماده سازی قبل از دوشش و ضد عفونی پس از دوشش در هیچکدام از گاو میش ها صورت نمی پذیرفت. نمونه گیری در نوبت صبح و پس از تمیز و خشک کردن کارتیبه ها (در صورت آغشتگی به مدفوع) از ابتدا تا انتهای فصل زمستان انجام گرفت. هر یک از کارتیبه ها ۷ بار با پنبه الکل ۷۰ درصد ضد عفونی گردیدند. بلافاصله پس از دور ریختن ۲ دوشش اولیه از هر کدام به مقدار ۳ سی سی شیر داخل گوده های ظرف مخصوص آزمایش ورم پستان کالیفرنایی (CMT: Bovi-Vet, Kruuse[®], Denmark) جهت تعیین درجه ابتلا (منفی، جزئی، +۱، +۲، و +۳) به ورم پستان تحت بالینی ریخته شد. سپس از هر کدام از کارتیبه ها، شیر به شکل مجزا در داخل ظرف استریل دارای برچسب با فاصله و زاویه مناسب بمقدار حدوداً ۱۵ سی سی دوشیده و جهت انجام شمارش تام باکتریایی و جستجوی باکتریهای عامل به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز منتقل شد. برای شمارش تعداد سلولهای پیکری شیر پس از دوشش کامل هر یک از کارتیبه ها و پس از مخلوط کردن شیر هر یک از آن ها به شکل مجزا، در ظروف مخصوصی اقدام به نمونه گیری شد (نمونه گیری از کل دوشش و به شکل مجزا



جدول ۱- فراوانی امتیاز کارتیه‌ها در آزمایش CMT.

| CMT | فراوانی | درصد |
|-----------------|---------|------|
| منفی | ۴۶۱ | ۳۸/۱ |
| جزئی (T) | ۵۶۶ | ۴۶/۸ |
| +۱ | ۱۵۲ | ۱۲/۶ |
| +۲ | ۱۴ | ۱/۲ |
| +۳ | ۱ | ۰/۱ |
| کل | ۱۱۹۴ | ۹۸/۸ |
| داده‌های گم شده | ۱۵ | ۱/۲ |
| کل | ۱۲۰۹ | ۱۰۰ |

جدول ۲- میانگین فاصله‌های SCC و SCS در کارتیه‌های با امتیازهای مختلف CMT با شمارش سلولی شیر.

| درجه CMT | تعداد کارتیه | میانگین SCC × 10 ³ | میانگین SCS | مقدار × 10 ³ حداکثر | مقدار × 10 ³ حداقل |
|----------|--------------|-------------------------------|-------------|--------------------------------|-------------------------------|
| منفی | ۳۷۶ | ۱۳۱ ^a | ۳/۳۸ | ۴۹۲ | ۳ |
| جزئی (T) | ۴۵۰ | ۱۷۹ ^a | ۳/۸۳ | ۶۷۸/۵ | ۱۰ |
| +۱ | ۱۲۰ | ۳۷۵/۷۸ ^b | ۴/۹۱ | ۲۳۶۵ | ۵۸ |
| +۲ | ۱۲ | ۱۶۸۵/۱۶۷ ^c | ۷/۰۷ | ۱۳۵۵۰ | ۲۷۰ |
| کل | ۹۵۸ | ۲۰۳/۶۸۲ | ۴/۷۹ | ۱۳۵۵۰ | ۳ |

a,b,c: بر اساس آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی Tukey تفاوت بین تعداد سلولهای پیکری در میانگین امتیازهای با حروف. متفاوت معنی دار می‌باشد (p < ۰/۰۰۱).

نتایج

۱- درصد کارتیه و گاومیش‌های عفونی:

بر اساس آزمایش ورم پستان کالیفرنایی (CMT) از مجموع ۱۲۰۰ کارتیه ۱۶۷ مورد (۱۳/۸۷ درصد) و از مجموع ۳۰۰ راس گاومیش ۷۱ راس (۲۳/۶۶ درصد) مبتلا به ورم پستان تحت بالینی تشخیص داده شدند. بر اساس کشت و شمارش میکروبی ۳۴ کارتیه از مجموع ۱۲۹ مورد نمونه برداری شده، ۲۶/۳۵ درصد کارتیه‌ها مبتلا به عفونت داخل پستانی (IMI) بودند. فراوانی و درصد کارتیه‌ها از لحاظ نوع واکنش در آزمون CMT در جدول اقبال مشاهده است.

بالحاظ کشت باکتریایی بعنوان آزمون طلائی، حساسیت و ویژگی CMT برای همه عفونت‌ها بترتیب ۵۵ درصد و ۶۷/۳۹ درصد و برای موارد عفونت با پاتوژنهای اصلی بترتیب ۷۰ درصد و ۵۰ درصد تعیین شد.

۲- شمارش سلول‌های پیکری شیر SCC:

مقادیر میانگین SCC و SCS در گروه‌های مختلف CMT در جدول ۲ و شکل ۱ نشان داده شده است.

(با توجه به اینکه تنها یک کارتیه دارای امتیاز +۳ بود، در محاسبات آماری حذف گردید).

۳- شمارش و تعیین هویت باکتریایی:

بیشترین تعداد باکتریهای جدا شده از نمونه‌های شیر کارتیه‌های مبتلا به IMI مربوط به استافیلوکوکهای کوآگولاز منفی (CNSs) بود ولی تاثیر چندانی در افزایش SCC شیر

برای هر کارتیه (و جهت شمارش تعداد SCC، توسط دستگاه فوسوماتیک کانتر (Model 5000, FOSS Fact., Denmark) به آزمایشگاه دریافت شیر شرکت پگاه استان آذربایجان شرقی انتقال یافت و هر نمونه پس از قرار گرفتن در یخچال، همان روز یا بفاصله ۴۸ ساعت مورد شمارش قرار گرفت. (قرص دی کرومات پتاسیم در صورت تاخیر بیش از ۴۸ ساعت در شمارش افزوده می‌شود). لازم به توضیح است شیر کارتیه‌ها جهت کشت و شمارش باکتریایی، بر اساس آزمون CMT و بتعداد ۳۰ نمونه از هر یک از امتیازهای مختلف (منفی، جزئی، +۱، +۲، +۳) و در مجموع ۱۵۰ نمونه انتخاب گردید. در آزمایشگاه میکروبیولوژی جهت شمارش تام باکتریایی در رقت‌های مختلف از نمونه شیر در محیط کشت پلیت کانت آگار بمقدار ۰/۱ میلی لیتر توسط میله L شکل کشت سطحی داده شد و پس از انکوباسیون بمدت ۴۸ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کلنی‌ها شمارش گردید. برای شناسایی و کشت افتراقی باکتری‌ها از روش استاندارد انجمن ملی ورم پستان (۲۱) استفاده شد. در مورد پاتوژنهای واگیردار استافیلوکوکوس آرتوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه در صورت جدا شدن حتی یک کلنی (≥ ۱۰۰ cfu/ml) آن کارتیه مبتلا به عفونت داخل پستانی (IMI) در نظر گرفته می‌شود. در مورد سایر باکتری‌ها، جداسازی ≤ ۵۰۰ cfu/ml و تا ۳ نوع کلنی، آن کارتیه بعنوان IMI تلقی می‌شود. نمونه‌های شیری که بیش از ۳ نوع کلنی داشته باشند آلوده و آن‌هایی که کمتر از ۵۰۰ cfu/ml با هر نوع میکروارگانسمی داشته باشند غیر آلوده هستند (۱۷).

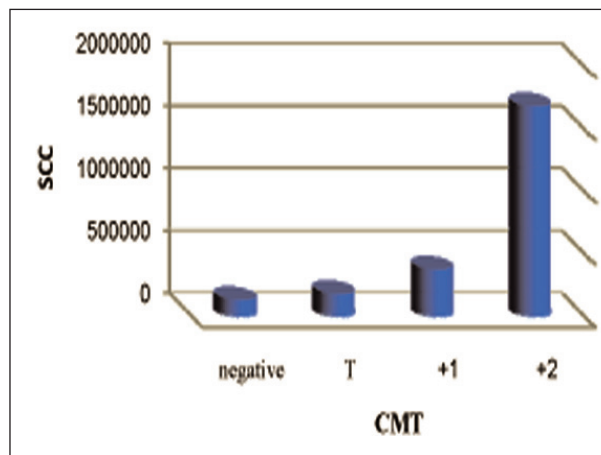
در نهایت داده‌های حاصله با استفاده از آزمون‌های آماری واریانس یک طرفه و آزمون تی مستقل در سطح (α = ۰/۰۵) مورد بررسی قرار گرفت.



جدول ۳- باکتری های جدا شده از عفونت های داخل پستانی و فراوانی آن ها.

| نام باکتری جدا شده | فراوانی | درصد | میانگین SCC×103 |
|--|---------|-------|-----------------|
| استافیلوکوکوس آرنوس | ۱ | ۲/۹۵ | ۶۵ |
| استافیلوکوکوس آرنوس + استرپتومایسس | ۱ | ۲/۹۵ | ۹۸ |
| استافیلوکوکوس آرنوس + کورینه باکتریوم بویس | ۴ | ۱۱/۷۵ | ۱۵۶ |
| استرپتوکوکوس آگالاکتیه | ۲ | ۵/۸۷ | ۱۳۶ |
| استرپتوکوکوس آگالاکتیه + رودوکوکوس اکوئی | ۱ | ۲/۹۵ | ۱۱۰ |
| کورینه باکتریوم بویس | ۴ | ۱۱/۷۵ | ۴۵۳۱ |
| استافیلوکوکوس ساپرو فیتیکوس | ۶ | ۱۷/۶۴ | ۱۰۸ |
| استافیلوکوکوس ساپرو فیتیکوس + پروتوس میرابیلیس | ۱ | ۲/۹۵ | ۲۵۵ |
| استافیلوکوکوس سیمولنس | ۱ | ۲/۹۵ | ۱۷۲ |
| استافیلوکوکوس هایکوس | ۲ | ۵/۸۷ | ۱۹۹ |
| استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس | ۲ | ۵/۸۷ | ۶۷۱ |
| استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس + میکروکوکوس | ۱ | ۲/۹۵ | ۶۰۶ |
| استافیلوکوکوس لنتوس | ۱ | ۲/۹۵ | ۱۲۴ |
| استافیلوکوکوس اینترمدیوس | ۱ | ۲/۹۵ | ۱۷۴ |
| استافیلوکوکوس ساپرو فیتیکوس + باسیلوس سوبتیلیس | ۱ | ۲/۹۵ | ۲۳ |
| استافیلوکوکوس سیمولنس + باسیلوس سوبتیلیس | ۱ | ۲/۹۵ | ۶۷۱ |
| باسیلوس سوبتیلیس | ۴ | ۱۱/۷۵ | ۳۶۷ |
| کل | ۳۴ | ۱۰۰ | - |

۱۲/۶ درصد) از کارتیه‌ها مبتلا به ورم پستان تحت بالینی هستند (۲۲). در حالی که در پاکستان طی مطالعه‌ی مشابهی با استفاده از CMT در گاو میش‌ها، ۶/۷ درصد کارتیه‌ها مبتلا شناخته شدند (۳). آلاچام و همکارانش در ترکیه با استفاده از CMT، میزان ورم پستان تحت بالینی را در گاو میش‌ها متغییر و بین ۴/۷ تا ۱۶ درصد گزارش کردند (۴). در این مطالعه نیز بر اساس آزمایش ورم پستان کالیفرنایی (۱۳/۸۷ درصد) کارتیه‌ها و (۲۳/۶۶ درصد) گاو میش‌ها مبتلا تشخیص داده شدند. در حالیکه میزان عفونت داخل پستانی با استفاده از کشت باکتریایی تقریباً دو برابر کارتیه‌ها (۲۶/۳۵ درصد) تعیین شد که حاکی از حساسیت و ویژگی بالای کشت میکروبی نسبت به CMT می‌باشد. در مطالعه‌ی (Moroni, P., 2006) در ایتالیا با استفاده از کشت میکروبی در ۴۶ گاو میش و ۱۹۱۲ نمونه شیر، میزان IMI بالا بوده و ۶۳ درصد کارتیه‌ها و همه گاو میش‌ها مبتلا تشخیص داده شدند (۱۷). شمارش سلول‌های سوماتیک شیر (SCC) معیاری غیر مستقیم برای شناسایی میزان شیوع ورم پستان در گله شیری است و همچنین در تشخیص ورم پستان گاو میش بکار برده می‌شود. در حقیقت طبق مطالعات قبلی (۲۹ و ۱۳) بنظر می‌رسد که احتمالاً SCC بیش از ۲۰۰ هزار سلول دارای ارزش نشان دهنده عفونت پستانی باشد.



شکل ۱- نمودار میانگین شمارش سلولی در کارتیه‌های با امتیازهای مختلف CMT.

نداشتند (جدول ۳). از تعداد ۱۵۰ نمونه کشت داده شده ۳۴ نمونه مبتلا به IMI، ۱۱۰ نمونه بر اساس تفسیر کشت میکروبی (۱۷) سالم و ۶ نمونه آلوده تشخیص داده شدند. بیشترین میزان SCC در میان کارتیه‌های عفونی مربوط به آلودگی با باکتری کورینه باکتریوم بویس با میانگین (۴۵۳/۱×۱۰^۴) و کمترین تعداد آن مربوط به آلودگی با ترکیب میکروبیهای باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس ساپرو فیتیکوس با شمارش سلولی (۲۳×۱۰^۳) می‌باشد. در حالیکه بر اساس آزمون آماری ANOVA اختلاف معنی داری در تاثیر نوع باکتری‌های مختلف جدا شده بر روی میانگین SCC مشاهده نشد. ولی بر اساس آزمون آماری T مستقل در سطح (α=۰/۰۵) تفاوت بین شمارش سلولی و باکتریایی شیر در کارتیه‌های سالم و عفونی دارای اختلاف معنی دار بود (p<۰/۰۵) (جدول ۴).

بحث

یکی از بیماریهای پر هزینه در صنعت تولید شیر ورم پستان است و با اینکه گاو میش از قدیم بعنوان حیوان با حساسیت کم به ورم پستان نسبت به گاو شناخته شده است (۳۲) برخی از محققان فراوانی ورم پستان مساوی برای هر ۲ گونه ارائه داده اند (۵، ۶، ۱۵). گاو میش‌ها دارای یکسری مشخصات هستند که باعث ریسک پذیری آن‌ها به ورم پستان می‌شود. برای مثال پستان خیلی آویزان و کارتیه‌ها در مقایسه با گاو طولانی تر هستند. ولی برعکس در گاو میش کانال سر پستانک باریک و دراز است که بنظر می‌رسد مانع از تهاجم میکروارگانیسما می‌شود.

در یک مطالعه در ترکیه (Ozenc, E., et al 2008) بر روی ۱۶۳۷ نمونه شیر گاو میش آنا تولیایی، نشان داده شد بر اساس CMT،



جدول ۴- مقایسه میانگین تعداد SCC, SCS, TBC در کارته‌های عفونی و سالم.

| کارته | تعداد | میانگین | انحراف معیار | خطای استاندارد میانگین |
|-------|---------------------|--|---|---|
| SCC* | سالم ۹۵ عفونی ۳۲ | $221/821 \times 10^3$ $779/203 \times 10^3$ | $185/523 \times 10^3$ $2417/096 \times 10^3$ | $19/034 \times 10^3$ $427/286 \times 10^3$ |
| SCS | سالم ۹۵ عفونی ۳۲ | $3/68$ $4/21$ | $1/27$ $1/75$ | $0/13$ $0/3$ |
| TBC* | سالم ۹۵ عفونی ۳۴ | $97/705$ $6/194 \times 10^3$ | $128/53$ $16/022 \times 10^3$ | $13/18$ $2/747 \times 10^3$ |

* اختلاف معنی دار بین کارته‌های سالم و عفونی وجود دارد ($p < 0.05$).

از ۳۵ گله شیری شیوع ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس آرنوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه و گونه‌های استرپتوکوکوس کلا ۳۴ درصد بود (۱۹). در مطالعه (Sears, P. et al., 1993) شیوع ورم پستان ناشی از ای کولای و کلبسیلا خیلی کم بود (۰/۶ درصد)، و عنوان شد که این پاتوژنها گاه‌گاه عامل افزایش ورم پستان و SCC در گله‌ها هستند. همچنین نشان داده شد که IMI ناشی از باکتریهای گرم منفی نسبتا دوره کوتاهی داشته و نمی توان همیشه آن‌ها را با کشت تشخیص داد (۲۸). در تحقیق حاضر میزان عفونت داخل پستانی گاو میش با استفاده از کشت ۲۶/۳۵ درصد بود که تقریبا مشابه با گونه گاو شیری می باشد. در مطالعات مشابهی روی گاو میش نتایج متنوعی بدست آمده است. برای مثال در تحقیقی در هندوستان با استفاده از کشت میکروبی ۲۱/۷ درصد گاو میش‌ها و ۸ درصد کارته‌ها در دوشش ابتدایی دارای ورم پستان تحت بالینی بودند (۱۲). در حالیکه در ایتالیا همه گاو میشها آلوده گزارش شدند (۱۷).

حساسیت بالای (۷۰ درصد) CMT در تشخیص کارته‌های مبتلا به پاتوژنهای اصلی نشان می دهد که می توان از این آزمایش در تشخیص این موارد استفاده کرد ولی برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی کارته‌های مبتلا به سایر باکتریها بدلیل حساسیت متوسط آن (۵۵ درصد) بهتر است از CMT به همراه کشت باکتریایی استفاده شود ولی با توجه به ویژگی نسبتا خوب آن (۶۷/۳۹ درصد) در تشخیص کارته‌های سالم گاو میش استفاده از آن توصیه می شود. در مطالعه مشابه انجام شده روی گاو میشهای آناتولیایی (۲۰۰۸) حساسیت و ویژگی این آزمایش برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی کارته‌های مبتلا به همه باکتری‌ها بترتیب (۴۵/۶ درصد) و (۹۰/۴ درصد) تعیین شد (۲۲). در مطالعات قبلی شایع ترین نوع باکتری جدا شده از نمونه‌های شیر گاو میش بترتیب استافیلوکوکهای کوآگولاز منفی (CNSs)، گونه‌های کورینه باکتریوم و استرپتوکوکها می باشند (۲۶ و ۲۰، ۲۰۰۹). در مطالعه دیگری استافیلوکوکوس آرنوس مهمترین میکروارگانیسم مسئول ورم پستان در گاو میش بود (۱۴) و در مطالعه CNS (Moroni, P., 2006) ها شایعترین پاتوژن بودند (۶۶ درصد نمونه‌های مثبت) و گونه‌های استرپتوکوکوس، باسیلوس و پروتئوس بترتیب با ۱۵ درصد، ۲/۱ درصد و ۲۰ درصد در ده‌های بعدی قرار داشتند (۱۷). در این مطالعه نیز بیشترین باکتریهای جدا شده گونه‌های استافیلوکوک و بخصوص CNS ها بودند و باکتریهای گرم منفی جدا شده

در گاو SCC کمتر از 10×10^3 سلول در هر میلی لیتر شیر طبیعی و بالاتر از $10^3 \times 200$ غیر طبیعی و نشان دهنده ورم پستان تلقی می شود (۱۲). در اکال طی مطالعه‌ای روی ۶۰ گاو میش نژاد مورادر نپال و هندوستان، میزان SCC طبیعی شیر گاو میش را $10^3 \times 151$ سلول در هر میلی لیتر تعیین کرد (۱۲). و آقای از نک در ترکیه حد آن را $10^3 \times 130$ در گاو میش‌های نژاد آناتولی تعیین کرد (۲۲). شاید دلیل بالا بودن SCC در گاو شیری مربوط به همبستگی آن با انتخاب طولانی مدت آن‌ها برای تولید شیر بالا باشد. یکی دیگر از دلایل احتمالی اختلاف SCC بین گاو و گاو میش می تواند بدلیل فعالیت فاگوسیتی متفاوت نوتروفیل‌ها در گونه‌های مختلف باشد. همچنین این اختلاف در غلظت آنزیم هیدرولازها (لیزوزیم) گزارش شده است (۲۵) که می تواند روی میزان SCC مورد نیاز جهت فعالیت فاگوسیتی در هر گونه تاثیر بگذارد. کشت تک تک کارته‌ها برای مشخص شدن کارته درگیر و یا کشت شیر مخلوط شده چهار کارته در یک گاو بعنوان قسمتی از آزمایش گله برای بررسی ورم پستان می تواند بکار رود.

شیوع عفونت داخل پستانی بر اساس کشت از یکصد هزار راس گاو در یک مطالعه در نیویورک و پنسیلوانیا ۵۰ درصد بود. و بیشترین باکتری جدا شده از کارته‌های عفونی گونه‌های استافیلوکوکوس و استرپتوکوکوس بود. نتایج این مطالعه پیشنهاد می کند که باکتری‌های گرم منفی عامل شایع IMI و ورم پستان نیستند (۱۰). یک مطالعه در انگلیس (۱۹۷۷) شیوع ورم پستان استافیلوکوکوی و استرپتوکوکوی را ۳۲ درصد گزارش کرد و نشان داد که ۷۰ درصد گاوهای انگلیس آلوده به کورینه باکتریوم بوویس هستند (۳۴). شیوع ورم پستان در ۲۵ گله شیری استرالیا (۶۳/۴ درصد) گزارش شده است (۳۳) و در گزارشی دیگر (۱۹۷۴)



عامل ایجاد کننده عفونت شناخته نشدند.

انجام آزمایشهای مربوط به باکتریولوژی.

SCC به شکل واضحی در کارته‌های عفونی بالا بود. ولی اختلاف معنی داری در تاثیر نوع باکتری‌های جدا شده از کارته‌های مبتلاروی میزان SCC مشاهده نشد. میانگین SCS در کارته‌های گاو میش‌های مبتلا به عفونت خیلی کمتر از گاوهای شیری مبتلا به IMI می‌باشد به طوری که میانگین آن در کارته‌های عفونی ۴/۲۱ بود. در حالی که عفونت در گاوهای شیری (۱۱) و بزها (۱۶) همراه با افزایش SCS است. بیشترین مقدار SCS در ارتباط با کورینه باکتریوم بوویس دیده شد و حداقل آن در ارتباط با مخلوط گونه‌های باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس بود. در سایر گونه‌ها نشان داده شده که استاف آرئوس باعث بیشترین افزایش در SCS نسبت به سایر گونه‌های استاف می‌شود (۱۱، ۱۶). میانگین SCS در این مطالعه در همه کارته‌ها تقریباً شبیه موارد گزارش شده برای گاو شیری می‌باشد (۲۷). نتایج بدست آمده از مطالعه et al. Ceron-Munoz در برزیل (۱۸) بر روی گاو میش هانشان داده که با افزایش SCC شیر مقدار تولید کاهش می‌یابد. با این حال اتحادیه اروپا محدوده ۴۰۰ هزار سلول را برای مصرف شیر گاو میش مقرر کرده است.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این تحقیق میزان شیوع ورم پستان تحت بالینی در این گونه تقریباً مشابه با گونه آناتولیایی و مورا بوده و تست CMT دارای حساسیت و ویژگی قابل قبولی برای تشخیص آن می‌باشد و با در نظر گرفتن اینکه شمارش SCC و کشت در بسیاری از مناطق پرورش دهنده گاو میش در دسترس نیست، استفاده از CMT می‌تواند یک روش جایگزین راحت باشد، اگرچه برخی از کارهای اخیر نشان داده که همبستگی کمی بین SCC و CMT وجود دارد (۳۱). همچنین الگوی باکتریایی جدا شده از موارد عفونی تقریباً مشابه با گونه گاو بوده ولی به احتمال زیاد کلی فرم‌ها در ورم پستان تحت بالینی گاو میش حائز اهمیت چندانی نمی‌باشند.

تشکر و قدردانی

با تشکر از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه در تامین مالی هزینه‌های تحقیق و سپاسگذاری فراوان از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد واحد تبریز در

منابع

- محمد صادق، م. (۱۳۷۹) دانستنی‌های روز در ورم پستان گاو. تهران، چاپ اول، انتشارات آبیژ.
- Aires-de-Susa, M., Parente, C.E.S.R., et al (2007) Characterization of Staphylococcus Aureus Isolates from Buffalo, Bovine, Ovine, and Caprine Milk Samples Collected in Rio de Janeiro State, Brazil, *Applied an Enviromental Microbiology*, **73(12)**: 3845-3849.
- Ahmad, R. (2001) studies on mastitis among dairy buffaloes, *Pakistan. Vet. J.*, **21**: 220-221.
- Alacam, E., Tekeli, T., et al. (1989) The diagnosis, isolation of etiological agents and antibiotic susceptibility test results in cows and buffaloes suffering from subclinical mastitis, *Selcuk Univ. Vet. Fak. Derg.*, **5**: 91-101.
- Badran, A. E. (1985) Genetic and environmental effects on mastitis disease in Egyptian cows and buffaloes. *Indian J. Dairy Sci*, **38**: 230-234.
- Bansal, B. K., Singh, K. A., Mohan, R., Joshi, D. V., Nauriyal, D. C. (1995) Incidence of subclinical mastitis in some cow buffalo herds in Punjab. *J. Res. Punjab Agric. Univ*, **32**: 79-81.
- Chander, S., Baxi, K. K. (1975) Note on diagnosis and treatment of subclinical mastitis in buffaloes. *Indian Vet. J.*, **52**: 847-849.
- Cockrill, W.R. (1993) Water Buffalo. In: Chamberlain, A. Ed. Milk Production in the Tropics. Longman Group, England. 192-202.
- Costa, E. O., Garino, J. r. F., Watanabe, E. T., Ribeiro, A. R., Silva, J., Vezon, P., Gabaldi, S. H., Benites, N. R., Baruselli, P. S., Paske, A. (1997) Evaluation of the CMT positivity and microbiological status of the mammary gland over the different lactation phases in buffalo cows (*Bubalus bubalis*). *Proc. World Buffalo Cong., Caserta, Italy*, **5**: 631-634.
- David, J., Wilson, Ruben N., et al., (1997) Bovine mastitis pathogens in Newyork and Pensylvania: Prevalance and effects on SCC and milk production, *J. Dairy Sci.*, **80**: 2592-2598.



11. Djabri, B., Bareille, N., Beaudeau, F., Seegers, H. (2002) Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: A meta-analysis. *Vet. Res.*, **33**:335-357.
12. Dhakal, I.P. (2006) Normal Somatic Cell Count and Subclinical Mastitis in Murrah Buffaloes, *J. Vet. Med. series B*, **53**(2):81-86.
13. Dhakal, I. P., Kapur, M. O., Sharma, A. (1992) Significance of differential somatic cell counts in milk for the diagnosis of subclinical mastitis in buffaloes using foremilk and stripping milk. *Indian J. Anim. Health*, **31**:39-43.
14. Jaffery, M. S., Rizvi, A.R. (1975) Aetiology of mastitis in Nili-Ravi buffaloes of Pakistan. *Acta Trop.*, **32**:75-78.
15. Kalra, D. S., Dhanda, M. R. (1964) Incidence of mastitis in cows and buffaloes in North West India. *Vet. Rec.*, **76**:219-222.
16. Moroni, P., Pisoni, G., Ruffo, G., Boettcher, P. J. (2005) Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian dairy goats. *Prev. Vet. Med.*, **69**:163-173.
17. Moroni, P., Rossi, C.S., Pisoni, G., et al. (2006) Relationships Between Somatic Cell Count and Intramammary Infection in Buffaloes, *J. Dairy Sci.*, **89**: 998-1003.
18. Munoz, M.C., Tonhati, H., Duarte, J., et al. (2002) Factors Affecting Somatic Cell Counts and their Relations with Milk and Milk Constituent Yield in Buffaloes, *J. Dairy Sci.*, **85**: 2885-2889.
19. Mylrea, P. J., Hoare, R.J.T., et al. (1977) The New South Wales mastitis control program 2. Effect upon bacterial infections. *Aust. Vet. J.*, **53**:534
20. Naiknaware, H. S., Shelke, D. D., Bhalerao, D. P., Keskar, D. V., Jagadesh, S., Sharma, L. K. (1998) Prevalence of subclinical mastitis in buffaloes in and around Mumbai. *Indian Vet. J.*, **75**:291-292
21. National Mastitis Council (1999) Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. National Mastitis Council, Madison, WI.
22. Ozenc, E., Vural, M.R., Seker, E., Ucar, M. (2008) An evaluation of subclinical mastitis during lactation in Anatolian buffaloes, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* **32**(5): 359-368
23. Paranjabe, V. L., Das, A. M. (1986) Mastitis among buffalo population of Bombay-A bacteriological report. *Indian Vet. J.*, **63**:438-441.
24. Radostitis, O.M. Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P. D. (2007) *Veterinary Medicine, Saunders co., Spain prin.*, 673-749.
25. Sahoo, G., More, T., Singh, V. K. (1998) A comparative study on certain enzymes of the granulocyte from different ruminant species. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, **21**:319-325.
26. Saini, S. S., Sharma, J. K., Kwatra, M. S. (1994) Prevalence and aetiology of subclinical mastitis among crossbreed cows and buffaloes in Punjab. *Indian J. Dairy Sci.*, **47**:103-107.
27. Schutz, M. M. (1994) Genetic evaluation of somatic cell scores for United States dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **77**:2113-2129.
28. Sears, P.M., Gonzales, R.N., et al. (1993) Procedure for mastitis diagnosis and control, The veterinary clinics of north America, Saunders co., Philadelphia, PA., **9**(3):449.
29. Singh, M., Ludri, R. S. (2001) Somatic cell counts in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*) during different stages of lactation, parity and season. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, **14**:189-192.
30. Teixeira, L.M., Merquior, V.L.C., et al (1996) Phenotypic and Genotypic Characterization of Atypical *Lactococcus Garvieae* Strains Isolated from Water Buffaloes with Subclinical Mastitis and Confirmation of *L. Garvieae* as a Senior Subjective Synonym of *Enterococcus Seriolicida*, *Inter. J. of Systematic Bacteriology*, **46**(3):664-668.
31. Thomas, C. S. (2004) Milking management of dairy buffaloes. Ph.D. Diss., Swedish Univ. Agric. Sci., Uppsala, Sweden.
32. Wanasinghe, D. D. (1985) Mastitis among buffaloes in Sri Lanka. *Proc. First World Buffalo Congr., Cairo, Egypt*, **4**:1331-1333.
33. Wanasinghe, D.D., Frost, A.J. (1979) The prevalence of udder infection and mastitis in herds producing bulk milk with either consistently high or low cell count. *Aust. Vet. J.*, **53**:534.
34. Wilson, C.D., Richards, M.S. (1980) A survey of mastitis in the British dairy herd, *Vet. Rec.*, **106**:431.

