

مطالعه ورم پستان کلینیکی کلی فرمی گاوهای شیری هلستاین در اطراف شهرستان گرمسار

مجید محمدصادق^{۱*}، مهدی عسکری^۲، مرتضی گرجی دوز^۱، مصطفی دانشور^۳، علیرضا کوچک زاده^۴

۱- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران

۲- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران

۳- دانش آموخته دکترای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران

۴- دستیار دکترای تخصصی باکتری‌شناسی، بخش میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۲۸ آبان ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: ۱ دی ۱۳۹۱

چکیده

به منظور تعیین نرخ وقوع ورم پستان کلی فرمی در شرایط ایران، از ۱۴۴ مورد ورم پستان کلینیکی در دامپروری‌های اطراف گرمسار نمونه شیرهای ورم پستانی جمع آوری و در آزمایشگاه کشت اختصاصی برای جدا شدن کلی فرم‌ها انجام شد. نتایج نشان داد تعداد ۵۱ (۳۴٪) نمونه دارای کلی فرم بود. پس از در نظر گرفتن تعداد کلنی $cfu > 500$ برای تعیین عفونت‌زا بودن موارد کلی فرمی، اشیریشیا کلی از ۷۲٪ موارد در حد عفونت‌زا و ۶۲٪ موارد در حد کمتر از آن جدا شد ولی سویه‌های کلبسیلا و پروتئوس ولگاریس تنها از موارد در حد عفونت‌زا جدا گردید. شایع‌ترین عوامل مولد عفونت کلی فرمی پستان اشیریشیا کلی (۷۲٪) و سویه‌های کلبسیلا (۱۴/۸٪) بودند. ورم پستان حاد شایع‌ترین (۶۴٪) شکل ورم پستان در این تحقیق بود و پس از آن نوع تحت حاد (۳۱٪) و سپس فوق حاد (۵٪) قرار داشت و تنها باکتری مولد حالت فوق حاد اشیریشیا کلی بود. همچنین از این تحقیق نتیجه‌گیری گردید که شایع‌ترین سن درگیری شکم دوم و شایع‌ترین نشانه آن وجود ترشحات آبکی فاقد دلمه و چرک و شایع‌ترین کارتیبه درگیر، چپ عقب بود. با توجه به نتایج آزمون آنتی بیوگرام موثرترین آنتی بیوتیک، سفتریاکسون بود.

کلمات کلیدی: ورم پستان کلی فرمی گاو شیری، اشیریشیا کلی، کلبسیلا

* نویسنده مسئول: مجید محمدصادق

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران. تلفن: ۰۹۱۲۱۴۸۱۱۳۷

پست الکترونیک: mmsadeq@iau-garmsar.ac.ir

مقدمه و هدف

ورم پستان از مهمترین بیماری‌های منجر به خسارت اقتصادی در گله‌های شیری می‌باشد. امروزه یکی از دلایل مهم زیان اقتصادی در صنعت دامپروری بیماری ورم پستان ایجاد شده توسط کلی فرم‌ها می‌باشد (۱۵). در دامپروری‌های صنعتی با سیستم متمرکز و متراکم که در آن دام محدود و تراکم دام زیاد می‌شود رخداد ورم پستان زیاد ولی در سیستم دامپروری آزاد در چراگاه وقوع ورم پستان کم می‌شود (۲). در گله‌هایی که با اجرای برنامه‌های کنترل و پیشگیری از ورم پستان ابتلا به ورم پستان ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* (ورم پستان مسری) کم شده است شیوع عفونت و ورم پستان کلی فرمی زیاد می‌شود (۱۳، ۱۴). در همین راستا خاطر نشان می‌گردد بیشترین رخداد این نوع ورم پستان در گله‌های با مدیریت خوب و تعداد سلول‌های سوماتیک کم است. انتقال کلی فرم‌ها از محیط آلوده به دام بیمار در هر مرحله‌ای از زندگی دام ممکن است ایجاد شود. در گاو در زمان بین شیردهی‌ها و در طی دوره خشکی و در تلیسه‌ها قبل از زایمان انتقال انجام می‌شود. در مواردی نیز نیروی تراکم شیر بر اثر سرخوردن خرچنگی دستگاه شیردوشی سبب انتقال در زمان شیردوشی می‌شود. بیشترین زمان وقوع عفونت داخل پستانی کلی فرمی ۲ هفته قبل از زایمان و ۲ هفته اول خشکی است ولی بیشترین زمان وقوع ورم پستان کلینیکی ناشی از آنها روزهای پراسترس پس از زایش است (۲). به دلیل اهمیت دوره خشکی در بروز عفونت جدید آن هم بدون نشانه‌های کلینیکی، استفاده از آنتی میکروبیال در دوره خشکی سبب کاهش موارد عفونت کراتیه و موارد کلینیکی پس از زایمان می‌شود. در گله‌هایی با سلول‌های سوماتیک کم در شیر مخزن گله

میزان شیوع ورم پستان کلینیکی در ۱۰۰ راس در یک سال ۴۵ تا ۵۰ مورد است به گونه‌ای که کلی فرم‌ها از ۳۰ تا ۴۰ درصد موارد کلینیکی جدا می‌شوند و این مشابه آن است که بگوییم میزان بروز موارد کلینیکی کلی فرمی در گله‌هایی با تعداد سلول‌های سوماتیک کم در مخزن شیر گله ۱۵ تا ۲۰ درصد راس دام در سال است. وقوع این نوع ورم پستان در گله‌های شیری به ندرت از ۱-۲ درصد افزایش می‌یابد. در گله‌های مسئله‌دار میزان کارتی‌های آلوده تا ۸ درصد افزایش می‌یابد و ۸۰ درصد موارد کلینیکی *اشریشیا کلی* خواهد بود (۲). شوکن (۲۰۰۹) نشان داده است که کلی فرم‌هایی مثل *کلبسیلا* و برخی دیگر از باکتری‌ها در شرایط امروزی بیشتر از گذشته سبب ورم پستان می‌شوند. به همین دلیل امکان تغییر میزان عفونت داخل پستانی و بروز موارد کلینیکی ناشی از هر باکتری در طول زمان و متعاقب اجرای برنامه‌های کنترل ورم پستان فراهم است و برآورد نرخ وقوع و شیوع هر کدام از باکتری‌های مولد ورم پستان و رصد دائمی آن لازم می‌نماید. از آنجا که امکان تکثیر و بیماری‌زایی باکتری‌های محیطی مولد ورم پستان علاوه بر سیستم ایمنی دام تحت تاثیر میزان آلودگی محیط، درجه حرارت و میزان بارندگی منطقه و بهداشت دامپروری نیز قرار می‌گیرد ضرورت بررسی مجزای نرخ وقوع و شیوع آنها در مناطق مختلف روشن می‌گردد. اطلاع از میزان بروز و شیوع ورم پستان کلینیکی در نقاط مختلف ایران نیز در برنامه‌ریزی‌ها لازم برای مبارزه با ورم پستان لازم است.

هدف از این تحقیق شناخت میزان وقوع ورم پستان کلی فرمی کلینیکی در مناطق اطراف گرمسار و عوامل موثر بر آن به منظور درمان و کنترل بهتر آن بود.

مطالعه Hogan 1999 استفاده شد. مطابق این مطالعه باکتری‌های غیر از *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* باید حداکثر ۳ نوع باکتری و بیشتر از ۵۰۰ کلنی در هر میلی لیتر شیر در محیط کشت داشته باشند تا بیماری‌زا در نظر گرفته شوند و باکتری‌های جدا شده در خارج از این شرایط به عنوان عفونت غیر بیماری‌زا در نظر گرفته می‌شوند (۱۰). در آزمایشگاه برای تشخیص و جداسازی کلی فرم، ۰/۱ میلی لیتر نمونه‌های مورد نظر روی محیط کشت مک کانکی در کنار شعله به صورت سطحی کشت داده و به مدت ۱۸ الی ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه‌گذاری گردید، لازم به ذکر است که سایر اعضای خانواده انتروباکتریاسه نیز روی این محیط رشد نموده و قابل جداسازی هستند و در این مطالعه مورد شناسایی قرار گرفتند. در پلیت‌هایی که در آن باکتری رشد کرده بود شمارش تعداد کلنی انجام شد و از پلیت‌هایی که دارای حداقل ۵۰۰ cfu پرگنه‌های مشکوک لاکتوز مثبت و لاکتوز منفی (و کمتر از ۳ نوع کلنی) بودند برای کشت تفریقی استفاده شد و از هر دسته پرگنه که از نظر ظاهری متفاوت بودند یک پرگنه به وسیله آنس نوک تیز سوزنی برداشته و در محیط TSI در سطح شیب دار و تلقیح نیزه‌ای در عمق کشت داده شد و به مدت ۱۸ الی ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرم خانه‌گذاری گردید. سپس خصوصیات بیوشیمیایی آن‌ها تفسیر و برای ارزیابی انواع گونه‌ها و جنس‌های اعضای خانواده انتروباکتریاسه از محیط‌های دیگر شامل: اوره آگار، SIM، MR/VP سیمون سترات، نترات برات استفاده گردید. برای تشخیص گونه محیط‌های لاکتوز، ساکاروز، مانیتول، سالیسین، سوربیتول، آرابینوز، رافینوز، زایلوز، لیزین آیرون آگار، اورنیتین دکربوکسیلاز، ONPG مورد استفاده قرار

مواد و روش کار

۱۵۰ نمونه شیر ورم پستانی طی چهار ماه نمونه‌گیری از بهمن ۱۳۹۰ تا اردیبهشت ۱۳۹۱ از دامپروری‌های مختلف شهرستان گرمسار فراهم گردید. نمونه شیر ورم پستانی از دامپروری‌های فردوس، عسکری، برون، زندی، لشکری با مدیریت‌های مشابه جمع‌آوری شد. نمونه‌ها از گاوهای دارای ورم پستان کلینیکی با درجات مختلف ۱ (تحت حاد)، ۲ (حاد) و ۳ (فوق حاد) گرفته شد. در تعریف موارد ورم پستان کلینیکی درجه ۱، ۲ و ۳ و روش نمونه‌گیری از منبع محمدصادق ۱۳۸۹ و رادوستیتس ۲۰۰۷ استفاده شد. قبل از مراجعه به دامپروری فرمی تهیه شد که در آن اطلاعاتی مربوط به تاریخ مطالعه، نام دامپروری، شماره گاو، سن، کارتیبه درگیر، میزان تولید، تعداد دوشش، فاصله از زایش، تعداد زایش، درجه ورم پستان، سابقه بیماری و... ثبت گردید. روش دریافت نمونه‌های شیر بدین صورت بود که پس از شناسایی کارتیبه درگیر (وجود دلمه یا لخته‌های زرد رنگ و/ یا ترشحات اگزوداتیو آبکی پایدار پس از دوشش سوم، وجود گرمی، قرمزی و درد در پستان و/یا وجود علائم عمومی در دام) برای جلوگیری از عفونت ثانویه سه دوشش اول کارتیبه مورد نظر دور ریخته و با پنبه الکل ضدعفونی گردید. نمونه‌های شیر در ظرف مخصوص جمع‌آوری شیر که قبلاً در دستگاه اتوکلاو استریل شده بودند ریخته و ظرف کمتر از ۲۴ ساعت در کنار یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی گرمسار منتقل شدند.

روش کار آزمایشگاهی در تشخیص و جداسازی خانواده انتروباکتریاسه

در بررسی نتایج کشت نمونه‌های شیر به منظور تعیین باکتری مولد عفونت داخل پستانی و ورم پستان از

از ۵۱ کارتیه واجد باکتری کلی فرم، ۳ کارتیه (۵/۸٪) فوق حاد و ۲۹ کارتیه (۵۶/۸٪) حاد و ۱۹ کارتیه (۳۷/۲٪) تحت حاد بود (جدول ۱).

شایع ترین باکتری در موارد بیماری /شریشیا کلی و سپس سویه های کلبسیلا بود ولی انتروباکتر آئروژنز بیشترین رخداد خود را (۶۶/۷٪) و سیتروباکتر فروئیدی و گونه های کلویورا^۱ تمام موارد رخداد خود را در موارد تعداد کلنی کمتر از حد بیماری زا نشان دادند. در میان باکتری های مورد بررسی، کلبسیلا پینومونیه با میزان وقوع ۸/۲٪ از کل موارد دارای تعداد کلنی بیماری زا، کلبسیلا اکسی توکا^۲ با میزان وقوع ۶/۶٪ از کل موارد دارای تعداد کلنی بیماری زا، پروتئوس ولگاریس^۳ با میزان وقوع ۴/۹٪ از کل موارد دارای تعداد کلنی بیماری زا، فقط از موارد دارای تعداد کلنی بیماری زا جدا شدند و از موارد منجر به آلودگی جدا نشدند که نشان دهنده شرایط ویژه آن ها در جدایه هاست. آزمون دقیق فیشر اختلاف توزیع باکتری ها در موارد دارای تعداد کلنی بیماری زا و موارد دارای کلنی کمتر از حد بیماری زا را معنی دار دانست (p=0.02).

در بررسی و مقایسه نوع ترشحات در موارد دارای تعداد کلنی بیماری زا و موارد دارای تعداد کلنی کمتر از آن، تمامی حوادث پاتولوژیک مانند وجود چرک یا دلمه و بودار بودن تنها در موارد دارای تعداد کلنی بیماری زا دیده شد و در موارد دارای تعداد کلنی کمتر از آن دیده نشد. البته تغییراتی مانند غلیظ شدن شیر در موارد تعداد کلنی کمتر از حد بیماری زا نیز دیده شد به همین دلیل از اهمیت موارد قبلی برخوردار نیست. آزمون دقیق فیشر اختلاف انواع ترشحات در دو گروه

گرفت. در این راستا از راهنمای تشخیص انواع باکتری های کلی فرمی براساس آزمایش های بیوشیمیایی (۶) استفاده شد.

روش انجام آنتی بیوگرام

برای تعیین حساسیت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک ها از روش Kirby & Bauer (۴) استفاده شد. از آنجا که میزان عوامل مهارکننده سولفانامیدها و تری متوپریم و تتراسایکلین در محیط مولر هینتون آگار کم و همچنین مقدار کاتیون های Ca^{++} و Mg^{++} موجود در آن تنظیم شده می باشد از آن به عنوان محیط انتخابی برای آزمایش بکار رفت. دیسک های آنتی بیوتیک از شرکت پادتن طب تهیه شد که شامل تتراساکلین (T30)، انروفلوکساسین (NFX5) جنتامایسین (GM10)، سفتری اکسون (CRO30)، تری متوپریم سولفامتوکسازول (SXT)، استرپتومایسین (S10)، کلرامفنیکل (C30) بود.

نتایج

در این تحقیق از ۱۴۴ نمونه شیر متعلق به ۸۳ راس گاو که به ورم پستان کلینیکی مبتلا بودند نمونه گیری بعمل آمد. پس از اقدام به کشت ۵۱ نمونه شیر کارتیه متعلق به ۳۳ راس گاو مبتلا به ورم پستان کلی فرمی بودند و بقیه کشت منفی و یا واجد باکتری غیر کلی فرمی بودند. از ۵۱ کارتیه دارای باکتری کلی فرم در مجموع ۷۷ باکتری جداسازی شد که ۶۱ مورد (۷۹/۲۲٪) باکتری در حد بیماری زا ($cfu > 500$) و ۱۶ مورد (۲۰/۷۷٪) در حد غیر بیماری زا ($cfu < 500$) ارزیابی شد.

¹ *Kluyvera* spp

² *Klebsiella oxytoca*

³ *Proteus vulgaris*

در بررسی انواع ترشحات مشاهده شده در درجات مختلف ورم پستان در میان ۳۷ مورد بررسی شده به ترتیب ترشحات آبکی بدون دلمه و چرک، شیر غلیظ، دلمه زرد کوچک، چرک و بودار بودن مشاهده شد. در میان ۹ مورد منجر به تحت حاد به ترتیب چرک ۴/۴۴٪، دلمه زرد کوچک ۳/۳۳٪، بودار ۱۱٪ و سپس آبکی بودن بدون دلمه و چرک ۱۱٪ دیده شد. در میان ۲۸ مورد حاد به ترتیب ترشحات آبکی بدون چرک و دلمه ۶/۴۶٪، شیر غلیظ ۶/۲۸٪، دلمه زرد کوچک ۷/۱۰٪، ترشحات بودار ۷٪ و سپس چرک ۷٪ مشاهده شد. متاسفانه شکل ترشحات پستانی موارد فوق حاد در این تحقیق بررسی نشد. آزمون دقیق فیشر اختلاف انواع ترشحات در درجات مختلف ورم پستان را معنی دار ندانست ($p=0.07$).

همچنین از ۴۴ مورد عفونت به اشریشیا کلی ۱۲ مورد (۳/۲۷٪) تحت حاد، ۲۹ مورد (۶۶٪) حاد و ۳ مورد (۸/۶٪) فوق حاد بود. بنابراین اشریشیا کلی تنها باکتری منجر به موارد فوق حاد بود (نمودار ۱). از ۵ مورد کلبسیلا پنومونیه ۳ مورد تحت حاد و ۲ مورد حاد بود. از ۴ مورد کلبسیلا اکسی توکا ۱ مورد تحت حاد و ۳ مورد حاد بود. یک مورد انتروباکتر نیز تحت حاد بود. آزمون دقیق فیشر تفاوت درجات ورم پستان در باکتری‌های مختلف را معنی دار دانست ($p=0.048$).

دارای تعداد کلنی بیماری‌زا موارد دارای تعداد کلنی کمتر از آن را معنی دار دانست ($P=0.02$).

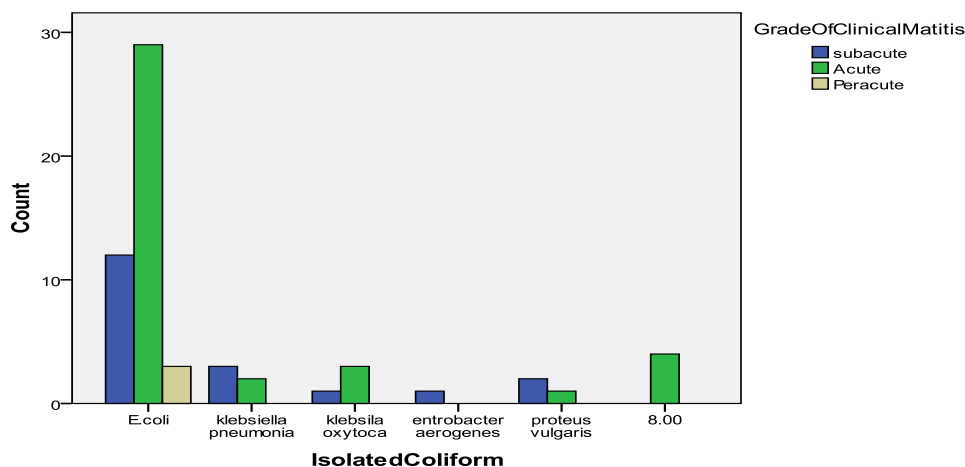
میزان جدا شدن گونه‌های مختلف باکتری‌های کلی فرمی از موارد دارای تعداد کلنی کمتر از حد بیماری‌زا در کشت (در مجموع ۱۶ مورد: موارد حاد=۵/۶۲٪ و تحت حاد=۵/۳۷٪ و فوق حاد=۰٪) و موارد دارای تعداد کلنی بیماری‌زا (در مجموع ۶۱ مورد: موارد حاد=۵۴٪، تحت حاد=۳۱٪ و فوق حاد=۰٪) در درجات مختلف ورم پستان با هم مقایسه شد و برخلاف انتظار تفاوت معنی داری نداشت ($P=0.15$).

در میان انواع نشانه‌های کلینیکی بررسی شده در میان کلی فرم‌های دارای تعداد کلنی بیماری‌زا ($n=37$) شایع‌ترین نشانه‌ها به ترتیب عبارت بودند از ترشحات آبکی بدون هر گونه دلمه و چرک ۸/۳۷٪، غلیظ بودن شیر ۶/۲۱٪، دلمه‌های ریز و همچنین چرک ۲/۱۶٪ و نهایتاً بودار بودن ۸/۱٪ ترشحات. چنین الگویی در اشریشیا کلی مشابه بود ولی در کلبسیلا پنومونیه ($n=2$) فقط چرک، در پروتئوس ($n=2$)، در یک مورد دلمه ریز زرد و در یک مورد غلیظ شدن شیر و در کلی فرم نامشخص ($n=2$) عمدتاً ترشحات آبکی عاری از دلمه یا چرک مشاهده شد. آزمون دقیق فیشر اختلاف انواع ترشحات در انواع باکتری‌ها را معنی دار دانست ($p=0.05$).

جدول ۱. توزیع مطلق و نسبی انواع ورم پستان کلینیکی یافت شده

تعداد کل	تحت حاد	فوق حاد	حاد	وضعیت تعداد
۳۳	۱۰ (۳۰/۳٪)	۲ (۶٪)	۲۴ (۷۲/۷٪)	گاو
۵۱	۱۹ (۳۷/۲٪)	۳ (۵/۸٪)	۲۹ (۵۶/۸٪)	کارتیه

Bar Chart



نمودار (۱) بررسی اثر نوع باکتری در شدت بروز ورم پستان

مورد و شکم ششم و هشتم ۴ مورد رخ داد. آزمون دقیق فیشر اختلاف را معنی دار دانست ($P=0.02$).

از آنجا که آزمون One sample Kolmogorov-Smirnov توزیع روزهای شیردهی را نرمال دانست برای بررسی از آزمون آنووا استفاده شد و نتایج نشان داد اختلاف روزهای شیردهی در انواع باکتری‌های مولد ورم پستان تفاوت معنی داری ندارد ($p=0.3$).

از آنجا که آزمون One sample Kolmogorov-Smirnov توزیع تولید شیر را نرمال دانست برای بررسی آن از آزمون آنووا استفاده شد و نتایج نشان داد اختلاف تولید شیر در انواع باکتری‌های مولد ورم پستان تفاوت معنی داری ندارد ($p=0.1$). میان تولید شیر موارد آلودگی $35/6 \pm 4/5$ و موارد عفونت کلی فرمی $29 \pm 1/6$ اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p=0.1$).

آزمون دقیق فیشر اختلاف نوع باکتری در کارته‌های مختلف را معنی دار دانست ($p=0.02$) به گونه‌ای که بیشترین درگیری در چپ عقب (۲۲ مورد، ۳۶٪) و سپس راست (۱۷ مورد، ۲۸٪) عقب بود.

انجام تست آنتی بیوگرام به روش کربی بائر نشان داد باکتری اشیریشیا کلی نسبت به آنتی بیوتیک

از ۴۴ مورد اشیریشیا کلی ۲۵ مورد ۵۷/۸٪ در اردیبهشت، ۱۲ مورد ۲۷/۳٪ در اسفند، ۴ مورد ۹٪ در فروردین و ۳ مورد ۷٪ در بهمن جداسازی گردید. از ۵ مورد کلبسیلا پنومونیه ۳ مورد ۶۰٪ در بهمن و ۲ مورد ۴۰٪ در اردیبهشت شناسایی گردید و هر ۴ مورد کلبسیلا اکسی توکا در اسفندماه جدا گردید. همچنین یک مورد انتروباکتر در بهمن ماه دیده شد. آزمون دقیق فیشر اختلاف نوع باکتری مولد ورم پستان در فصول مختلف را معنی دار دانست ($p=0.02$).

بیشترین رخداد ورم پستان کلی فرمی کلینیکی همراه جدا شدن عفونت ($n=61$) در شکم دوم ($n=18$ ، ۳۰٪) و سپس اول ($n=14$ ، ۲۳٪) مشاهده شد. در ۱۴ مورد مبتلا در زایش اول ۶ مورد اشیریشیا کلی، ۳ مورد کلبسیلا پنومونیه و ۲ مورد کلبسیلا اکسی توکا بود. از ۱۸ مورد شکم دوم ۱۴ مورد اشیریشیا کلی بود. هر دو مورد شکم زایش سوم اشیریشیا کلی بود. هر ۹ مورد شکم چهارم نیز اشیریشیا کلی بود. از ۸ مورد شکم پنجم ۵ مورد اشیریشیا کلی بود. هر چهار مورد شکم ششم و هشتم اشیریشیا کلی بود. موارد اشیریشیا کلی نیز به ترتیب در شکم دوم ۱۴، چهارم ۹، اول ۶، پنجم ۵

همین دلیل یکی از نقاط ضعف این تحقیق آن است که فقط به مناطق اطراف گرمسار در تهیه نمونه اکتفا شده است و در نتیجه امکان تعمیم یافته‌های این تحقیق به تمام نقاط ایران با آب و هوایی مختلف و مدیریت دامپروری متفاوت کاهش می‌یابد.

Schukken (2008) نسبت به افزایش حضور باکتری‌های کلبسیلا و انتروباکتر در مقایسه با اشریشیاکلی هشدار داده است (۱۶). با این حال یافته‌های این تحقیق نشان‌دهنده فزونی میزان وقوع عفونت‌های کلینیکی ناشی از گونه اشریشیاکلی بود. جالب آنکه اشریشیاکلی تنها باکتری مولد موارد فوق حاد بود بنابراین اشریشیاکلی همچنان و مثل گذشته شایع‌ترین گونه مولد ورم پستان کلی فرمی است ولی پس از آن کلبسیلا مسئول بیشترین رخداد ورم پستان کلینیکی کلی فرمی است. در یک بررسی که در بازه زمانی ۱۰۰ روز اول پس از زایمان بر روی ۱۵۳ مورد ورم پستان کلینیکی گاو انجام شده است ۴۰/۵٪ موارد پاتوژن کلی فرمی، ۵۰ مورد (۳۲/۶٪) اشریشیاکلی، ۴ (۲/۶٪) مورد کلبسیلا، ۶ (۴٪) مورد سراتیا، ۲ مورد سیتروباکتر مورد شناسایی قرار گرفتند (۵). در تحقیقات Shpigel و همکاران (۱۹۹۷) نیز باکتری‌های کلی فرمی با نرخ حضور (۶۰/۲٪) نسبت به استریتوکوک‌های محیطی، استافیلوکوک کواگولاز منفی و سایر گونه‌های غیرباکتریایی بیشترین میزان حضور را داشتند (۱۷).

در انگلستان ۳۰ تا ۴۰ درصد موارد کلینیکی اشریشیاکلی بوده است. در گله‌های مسئله‌دار میزان کارتی‌های آلوده تا ۸ درصد افزایش می‌یابد و ۸۰ درصد موارد کلینیکی اشریشیاکلی بوده است. در گزارشی موارد کلینیکی کلی فرمی از ۳ تا ۳۲ درصد متغیر بوده است

کوتریموکسازول ۷۷/۷٪ حساس، ۳/۷٪ نیمه حساس، و ۱۸/۵٪ مقاوم، نسبت به کلرامفنیکل ۷۴/۰۷٪ حساس، ۱/۸۵٪ نیمه حساس، و ۲۵/۹۲٪ مقاوم و نسبت به استرپتومایسین ۶۲/۹۶٪ حساس، ۲۷/۷۷٪ نیمه حساس، و ۹/۲۵٪ مقاوم و نسبت به سفتریاکسون ۸۸/۸۸٪ حساس، و ۱۱/۱۱٪ مقاوم و هیچ گونه‌ای نسبت به آن نیمه حساس نبود. نسبت به انروفلوکساسین ۸۳/۳۳٪ حساس، ۳/۷٪ نیمه حساس، و ۱۲/۹۶٪ مقاوم و نسبت به جنتامایسین ۹۲/۵۹٪ حساس، ۷/۴٪ مقاوم و نیمه حساس وجود نداشت و نسبت به تتراسایکلین ۵۱/۸۵٪ حساس، ۷/۴٪ نیمه حساس، و ۴۰/۷۴٪ مقاومت نشان داد.

نتایج آنتی بیوگرام در مورد سایر باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به این صورت بود که نسبت به کوتریموکسازول ۵۴/۵۴٪ حساس، ۴۵/۴۵٪ مقاوم، و موردی مبنی بر نیمه حساس مشاهده نشد، نسبت به آنتی بیوتیک کلرامفنیکل ۸۱/۸۱٪ حساس، ۴/۵۴٪ نیمه حساس، ۱۳/۶۳٪ مقاوم، نسبت به استرپتومایسین ۹۰/۹۰٪ حساس، ۴/۵۴٪ نیمه حساس، و ۴/۵۴٪ مقاوم، نسبت به سفتریاکسون ۸۶/۳۶٪ حساس، ۴/۵۴٪ نیمه حساس، ۹٪ مقاوم، نسبت به انروفلوکساسین ۷۷/۲۷٪ حساس، ۱۸/۱۸٪ نیمه حساس، و ۴/۵۴٪ مقاوم، در مورد آنتی بیوتیک جنتامایسین تمام موارد ۱۰۰٪ حساس، در مورد تتراسایکلین ۴۵/۴۵٪ حساس، ۱۳/۶۳٪ نیمه حساس، و ۴۱٪ از خود مقاومت نشان دادند.

بحث

از آنجا که بهداشت محیط، استرس و سیستم ایمنی دام سه عامل مهم در بروز ورم پستان کلی فرمی محسوب می‌شود (۱۳). فصل سال، میزان بهداشت، میزان بارندگی، سطح مدیریت گله و محل جغرافیایی آن بر میزان شیوع ورم پستان کلی فرمی موثر است. به

ولی میانگین میزان بروز در گله‌های شیری ۶ تا ۸ مورد در ۱۰۰ گاو در یک سال بوده است (۱۴).

از آنجا که سیستم ایمنی دام و سطح استرس در بروز ورم پستان کلی فرمی مهم می‌باشد رادوستیتس (۲۰۰۷) بیشترین زمان وقوع ورم پستان کلینیکی را در روزهای پراسترس پس از زایش می‌داند (۱۴). به همین دلیل فرضیه اولیه این تحقیق آن بود که رخ داد ورم پستان کلی فرمی در ۳۰ روز اول دوره پس از زایمان باشد (۱۶). این فرضیه در تحقیقات انجام شده در این تحقیق به تأیید نرسید زیرا میانگین روزهای شیردهی در زمان ابتلا در موارد بررسی شده در این تحقیق $132 \pm 153/6$ بود. البته این یافته با نتایج (Bradley و Green 2000) مطابقت داشت زیرا در بررسی ایشان نیز روزهای شیردهی در زمان ابتلا به ورم پستان کلی فرمی ۱۰۰ روز برآورد شد (۵).

شایع‌ترین شکل ورم پستان مشاهده شده در این تحقیق نوع حاد بود به گونه‌ای که در میان ۶۱ مورد ورم پستان کلینیکی ۳ مورد (۵٪) فوق حاد، ۳۹ مورد (۶۴٪) حاد و ۱۹ مورد (۳۱٪) تحت حاد مشاهده شد. البته تنها باکتری مولد حالت فوق حاد/شیرشیا کلی بود. به اعتقاد رادوستیتس (۲۰۰۷) شدت ورم پستان در موارد کلی فرمی بیشتر از آنکه تحت تأثیر حداث باکتری باشد تحت تأثیر شدت استرس، شرایط سیستم ایمنی و فاصله از زایش است (۱۳). شاید اگر وقوع ورم پستان به جای حدود ۱۵۰ روز در حدود ۴۰ روز پس از زایمان بود موارد فوق حاد افزایش می‌یافت.

در بررسی رابطه شکل ظاهری نمونه‌های شیر ورم پستان کلینیکی کلی فرمی با گونه‌های کلی فرم جدا شده در این تحقیق نتایج با یافته‌های قید شده توسط رادوستیتس در سال ۲۰۰۰ و ۲۰۰۷ همخوانی داشت (۱۳ و ۱۲). در میان انواع نشانه‌های بررسی شده در میان

کلی فرم‌های مولد ورم پستان شایع‌ترین نشانه‌ها به ترتیب عبارت بودند از ترشحات آبکی بدون هر گونه دلمه و چرک $37/8$ ٪، غلیظ بودن شیر $21/6$ ٪، دلمه‌های ریز 16 ٪، چرک 16 ٪ و نهایتاً بودار بودن 8 ٪. چنین الگویی به طور کامل در مورد/شیرشیا کلی مشابه بود. به این معنی که شایع‌ترین نشانه‌ها به ترتیب عبارت بودند از ترشحات آبکی بدون هر گونه دلمه و چرک، غلیظ بودن شیر، دلمه‌های ریز، چرک و در نهایت بودار بودن.

در بررسی ارتباط شدت ورم پستان با نوع نشانه‌های کلینیکی در این تحقیق، در موارد حاد ترشحات آبکی بدون دلمه و چرک (۴۶٪) و در موارد تحت حاد مشاهده چرک (۴۴٪) شایع‌ترین تغییرات شیر بودند. به اعتقاد رادوستیتس ۲۰۰۷ ترشح پستانی در نوع حاد و فوق حاد سرورزی و گاه ترشحات زرد رنگ با تعداد کمی لخته‌های ریز است. به طور معمول در فرم فوق حاد به دلیل خروج اکسودا از سرم خون، ترشح آبکی سرورزیده مانند و در دیگر موارد به دلیل فرصت کافی برای تبدیل فیبرینوژن به فیبرین لخته‌های زرد رنگ دیده می‌شود. لخته‌ها ترکیبی از نوتروفیل‌هایی که باکتری را خورده‌اند و فیبرین‌های رسوب کرده می‌باشند. در بررسی بافت پستان مبتلا پس از مرگ ادم و هیپرامی دیده می‌شود. جراحات اصلی در اپیتلیوم سرپستانک و سینوس‌های شیری دیده می‌شود که به سرعت به مجاری شیری بالاترگسترش می‌یابد. تهاجم به پارانشیم از تظاهرات/شیرشیا کلی نیست. در موارد فوق حاد شدید با وجود تعداد بی‌شمار باکتری، ارگانسیم به طور عمده در لومن و مجاری ترشحي محدود است و تهاجم کمی به بافت پارانشیم رخ می‌دهد (۱۴ و ۲).

ضعف در شناسایی باکتری و یا فقدان تولید میانجی‌های التهابی موثر در اپسونیزه کردن نیست بلکه به دلیل تغییر نوتروفیل‌ها و ضعف عملکرد آن‌هاست. C18، C14، اثر متقابل لکتین-کربوهیدرات در سطح نوتروفیل گاو در بیگانه خواری *اشریشیا کلی* از نوع بدون دخالت اپسونین‌ها موثرند (۱۴ و ۲).

بر طبق یافته‌های این تحقیق وقوع ورم پستان کلینیکی در کارتی‌های عقب بیشتر از کارتی‌های جلو بود به گونه‌ای که بیشترین درگیری در چپ عقب (۲۲ مورد، ۳۶٪) و سپس راست (۱۷ مورد، ۲۸٪) بود. فرضیه اولیه در مورد کارتی‌های درگیر ورم پستان کلی فرمی احتمال وقوع در کارتی‌های عقب را بالاتر می‌دانست زیرا عامل این نوع ورم پستان در زمان بین دوشش‌ها از کف جایگاه وارد پستان می‌شود و از آنجا که در بلند شدن و نشستن گاو کارتی‌های عقب و به ویژه کارتی‌های راست-عقب (در گاوهای راست دست) بیشتر در فشار و تماس با کف جایگاه است انتظار می‌رفت در این کارتی‌ها رخداد ورم پستان بیشتر باشد.

یکی از فرضیات مورد بحث در این تحقیق آن بود که استرس ناشی از شیرواری می‌بایست بر نرخ بروز ورم پستان کلی فرمی تاثیر بگذارد به همین دلیل انتظار می‌رفت در گروهی که به ورم پستان کلی فرمی آلوده نبودند و یا از شیر آن‌ها باکتری در حد آلودگی جدا شد مقدار شیر قبل از درگیری کمتر از موارد مبتلا به ورم پستان کلی فرمی باشد و این فرضیه در حد بررسی انجام شده در این تحقیق به تایید نرسید زیرا تفاوت معنی‌داری میان مقدار تولید شیر موارد عفونت کلی فرمی و موارد آلودگی یافت نشد.

نتایج آنتی بیوگرام دو استفاده کاربردی مهم در بردارد. نخست آنکه در درمان موارد کلینیکی بهترین آنتی بیوتیک برای درمان را می‌توان تعیین کرد و

در این تحقیق بیشترین نرخ رخداد کلی فرم‌ها و همچنین *اشریشیا کلی* در اردیبهشت مشاهده شد. البته بهمن و اسفند ماه در منطقه تحت بررسی نماینده فصل سرد و بارانی، فروردین نماینده فصل معتدل و اردیبهشت نماینده فصل گرم و خشک در نظر گرفته شده است ولی بهتر است مطالعه در تمام ماه‌های سال تکرار شود. به اعتقاد ادموندسون و بلویی ۲۰۰۱ میزان وقوع ورم پستان ناشی از *اشریشیا کلی* در بستر کثیف و مرطوب و در زمستان افزایش می‌یابد زیرا در تابستان‌هایی با درجه بیشتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد فعال باقی نمی‌ماند (۸). به اعتقاد رادوستیتس (۲۰۰۷) مشخص شده است که آنکوباسیون مواد بستر در ۳۰ تا ۴۴ درجه سانتی‌گراد سبب تکثیر و افزایش تعداد کلی فرم‌ها و در ۲۲ درجه سانتی‌گراد سبب ثابت ماندن تعداد و در ۵۰ درجه سانتی‌گراد سبب مرگ این نوع باکتری شده است (۱۳).

بیشترین رخداد ورم پستان کلی فرمی در یافته‌های این تحقیق در شکم دوم و سپس اول مشاهده شد. فرضیه اولیه این تحقیق در مورد زمان بروز ورم پستان کلی فرمی انتظار شکم اول و سوم تا پنجم را مطرح کرده بود زیرا این نوع ورم پستان با کاهش سیستم ایمنی در دام ارتباط دارد و در شکم اول کاهش سیستم ایمنی به دلیل ادامه رشد بدنی و احتمال وقوع کتوز پس از زایمان مورد انتظار بود. از سوی دیگر در شکم زایش سوم تا پنجم افزایش احتمال وقوع کتوز به دلیل افزایش تولید شیر مطرح می‌باشد. در ایران متوسط ماندگاری گاو ۲/۵ شکم است.

به اعتقاد رادوستیتس ۲۰۰۷ و محمدصادق ۱۳۸۹ در دام‌های مبتلا به افزایش مواد کتونی در خون (کتونمیا)، بدون توجه به پاسخ کموتاکتیک، ورم پستان ناشی از *اشریشیا کلی* شدیدتر است. تاخیر در فراخوانی به دلیل

متناسب با انتشار آن در پستان و شیر از آن بهره برد. دیگر آنکه آنتی بیوگرام در شناخت سویه‌های درگیر مفید است زیرا تغییر رفتار آنتی بیوگرام یک سویه باکتری نشان‌دهنده تغییر سویه باکتری می‌باشد (۱۶). در این تحقیق نتایج آنتی بیوگرام/شریشیا کلی نشان داد به سفتریاکسون، جنتامایسین و استرپتومایسین بیشتر از دیگر آنتی بیوتیک‌ها حساس است ولی چون امینوگلیکوزید هستند برای درمان ورم پستان مناسب نیستند (۲۲). موثرترین آنتی بیوتیک سفتریاکسون در نظر گرفته شد. Farooq و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند از میان ۸۰۰ نمونه شیر ورم پستان متعلق به بوفالو، ۱۶٪ از ورم پستان‌ها/شریشیا کلی بوده که از میان جدایه‌ها ۴۰٪ به انروفلوکساسین، ۲۴٪ به جنتامایسین، ۱۶٪ به کلرامفنیکل، ۸٪ به آموکسی سیلین، ۴٪ به کانامایسین، ۲٪ به استرپتومایسین و پنسیلین و ۴٪ به کانامایسین و سولفامتوکسازول حساس بودند (۹). Zeb khan و همکاران (۲۰۰۴) از میان ۱۰۰ جدایه/شریشیا کلی مولد ورم پستان ۱۰۰٪ جدایه‌ها به سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و کلرامفنیکل حساس بودند و ۹۵٪ به سفالوتین و ۹۱٪ به لینکوسپکتین و ۹۵٪ به اکسی تتراسایکلین و ۷۳٪ نوویوسین و ۴۵٪ به استرپتومایسین حساس بودند (۲۱). در بررسی Sumathi و همکاران (۲۰۰۸) روی جدایه‌های ورم پستان بالینی گاو، ۱۰۰٪ جدایه‌ها به سیپروفلوکساسین و ۹۶٪ به کلرامفنیکل و ۸۶٪ به انروفلوکساسین، ۷۴٪ به جنتامایسین، ۴۹٪ به سفالکسین، ۴۲٪ به استرپتومایسین، ۴۷٪ به نتومایسین، ۱۳٪ به تتراسایکلین حساس بودند و تمامی جدایه‌ها به آمپی سیلین مقاوم بودند (۱۸).

نتیجه گیری

شریشیا کلی از ۷۲٪ موارد عفونت و ۶۲٪ موارد آلودگی کشت داده شده جدا شد ولی سویه‌های

کلبسیلا و پروتئوس و لگاریس همگی تنها از موارد عفونت جدا شدند. شایع‌ترین باکتری مولد عفونت کلی فرمی/شریشیا کلی و سویه‌های کلبسیلا (۱۴/۸٪) بودند. ورم پستان حاد شایع‌ترین شکل ورم پستان در این تحقیق بود و پس از آن نوع تحت حاد و سپس فوق حاد قرار داشت. تنها باکتری مولد حالت فوق حاد/شریشیا کلی بود. در میان انواع نشانه‌های بررسی شده در میان کلی فرم‌های مولد ورم پستان شایع‌ترین نشانه‌ها به ترتیب عبارت بودند از ترشحات آبکی بدون هر گونه دلمه و چرک، غلیظ بودن شیر، دلمه‌های ریز، چرک و نهایتاً بودار بودن. چنین الگویی به طور کامل در مورد/شریشیا کلی مشابه بود. در موارد حاد ترشحات آبکی بدون دلمه و چرک و در موارد تحت حاد مشاهده چرک شایع‌ترین تغییرات شیر بود. /شریشیا کلی تنها باکتری مولد موارد فوق حاد بود. بیشترین نرخ رخداد کلی فرم‌ها و همچنین/شریشیا کلی در اردیبهشت مشاهده شد. بیشترین رخداد در شکم دوم و سپس اول مشاهده شد. بیشترین درگیری در چپ عقب و سپس راست عقب بود.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بدین وسیله از تلاش‌های ارزنده کارشناسان آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار آقایان مهندس مجید یزدانی و کمال خسروی تقدیر و تشکر می‌نمایند.

منابع

۱. زهرایی صالح، ت.، شایق، ج. (۱۳۸۶). میکروب شناسی دامپزشکی و بیماری‌های میکروبی (بیماری‌های باکتریایی). انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۱۴۰-۲۳.

- serum complement, iss. and virulence of avian *Escherichia coli*. *Veterinary Research Communications* **27**:101-10.
12. Philpot, W.N., Nickerson, S.C. (2000). *Winning the Fight against Mastitis*. Published by Westfalia Surge Inc., Translated by Garagozloo, F., Vojgani, M., Published by Sanaye Gostaresh Co., pp: 21-45.
 13. Radostitis, O.M., Blood, D.C. (2000). *Verterinary Medicine*. W.B. Saunders co. London, pp: 603-700.
 14. Radostitis, O.M., Gay, C.C., Hichiff, K.W., Constable, P.D. (2007). *Veterinary Medicine*. WB Saunders-Elsevier Edinburg, pp: 673-762.
 15. Seegers, H., Fourichon, C., Beaudeau, F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research* **34**: 475-91.
 16. Shukken, Y.H., Barkema, H.W., Lam, T.J.G.M., Zadoks, R.N. (2008). Improving udder health on well managed farms: Mitigating the perfect storm. Mastitis control from Science to practice. Proceeding of international conference, 30 Sep -2 Oct 2008. The Hague. The Netherlands. pp: 21-35.
 17. Shpigel, N.Y., Chen, R., Winkler, M., Saran, A., Ziv, G., Longo, F. (1994). The anti-inflammatory ketoprofen in the treatment of field cases of bovine mastitis. *Research in Veterinary Science* **56**: 62-8.
 18. Sumathi, B.R., Amitha, R., Gomes, A., Krishnappa, G. (2008). Antibiogram profile based dendrogram analysis of *Escherichia coli* serotypes isolated from bovine mastitis. *Journal of Veterinary World* **1**:37-9.
 19. Wang, Y.S., VanderMeer, T.J., Fink, P. (1994). Uncoupling of coronary microvascular beta 2-and enoceptors by *Escherichia coli* endotoxemia. *Journal of Surgery* **54**: 307-11.
 20. Winkler, P. (1986). *Mastitis. Current Veterinary Therapy, Food Animal*
 ۲. محمدصادق، م. (۱۳۸۹). ورم پستان در دام‌های شیری. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار.
 3. Barkema, H.W., Schukken, Y.H., Lam, T.J., Beiboer, M.L., Wilmink, H., Benedictus, G., Brand, A. (1998). Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. *Journal of Dairy Science* **81**: 411-9.
 4. Bauer, A.W., Sherries, K. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology* **45**: 493-6.
 5. Bradley, A.J., Green, M.J. (2000). A study of the incidence and significance of enterobacterial infections acquired during the non-lactating period of dairy cattle under U.K. field conditions. *Journal Dairy Science* **83**: 1957-65.
 6. Buchana, R.E. (2007). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th edition. Williams & Wilkins.
 7. Corlett, N.J., Peters, R.R., Paape, M.J., Scultze, W.D. (1984). Effect of intra mammary device on new infection rate, milk yield and milk somatic cell counts in Marylan dairy herd. *Journal of Dairy Science* **67**: 2571-9.
 8. Edmondson, P., Blowey, R. (2001). *The Veterinary Guide to Mastitis*. Intervet. UK Limited. pp: 1-94.
 9. Farooq, A.A., Inayat, S., Akhtar, M.S., Mushtaq, M. (2008). Prevalence of mastitis and antibiotic sensitivity of bacterial isolates recovered from Nili-ravi buffaloes. *The Journal of Animal and Plant Sciences* **18**: 76-7.
 10. Hogan, J.S., Gonzalez, R.N., Harmon, R.J., Nickerson, S.C., Oliver, S.P., Pankey, J.W., Smith, K.L. (1999). *Laboratory and field handbook on bovine mastitis*. Revised edition. National mastitis council Inc., Wisconsin, Madison, pp: 1-33.
 11. Nolan, L.K., Horne, S.M., Giddings, C.W., Foley, S.L., Johnson, T.J., Lynne, A.M., Skyberg, J. (2003). Resistance to

Practice. W.B. Saunders Co., London. Vol. 2, pp:765-71.

21. Zeb Khan, A., Khan, A., Hayat, C.S., Munir, Z., Ayaz, U. (2004). Prevalence of mastitis in buffaloes and antibiotics sensitivity profiles of isolates. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences* **2**: 73-5.
22. Ziv, G. (1980). Drug selection and use in mastitis: Systemic vs. local therapy. *Journal of American Veterinary Medical Association* **176**:1109-15.

Archive of SID

A Study on the Clinical Coliform Mastitis of Holstein Cows on Garmsar Suburban Dairy Farms

**Mohammad Sadegh, M.^{1*}, Askari Badouei, M.², Gorjidooz, M.¹, Daneshvar, M.³,
Koochakzadeh, A.⁴**

1- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

2- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

3- Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

4- Ph.D. Student of Bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received Date: 18 Nov 2012

Accepted Date: 20 Dec 2012

Abstract

In order to determine the clinical coliform mastitis incidence rate in Iran's condition, the milk samples were collected from 144 cases of clinical mastitis on Garmsar suburban dairy Farms. The milk samples were incubated on a specific culture media to isolate coliform bacteria. Results showed that 51 milk samples (34%) contained coliform bacteria. E. coli was isolated from 72% of infected milk samples and 62% of contaminated milk samples, but Klebsiella spp. and proteus vulgaris were isolated only from infected milk samples. Klebsiella spp. and E. coli were the most current coliform bacteria isolated from infected milk samples. Acute mastitis was the most current type (64%) of coliform mastitis and subacute (31%) and per acute (5%) were the next current types, respectively. The only kind of coliform bacteria producing per acute type of mastitis was E. coli. The most current parity was second parturition, the most current sign of mastitis was the watery discharge and the most current quarter was the rear left. Ceftriaxone was shown to be the most effective antibiotic.

Keywords: Dairy cows, Coliform mastitis, E. coli, Klebsiella

*Corresponding author: Mohammad Sadegh, M.

Address: Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran. Tel: 09121481137

Email: mmsadeq@iau-garmsar.ac.ir