

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

دکتر عبدالله حسین خان ناظر^{۱*} دکتر محمد رضا سارمدی^۲

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

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

Nazer, A.H.K.,¹ Sarmadi, R.²

¹Department of Food Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz - Iran. ²Graduated 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 concentration (MIC) in the original bacteria (such as staphylococcus 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, Penicillin, 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

هدف: هدف از انجام این مطالعه بررسی فراوانی اورام پستانی بالینی و تحت بالینی در گاو و سنجش کمترین غلظت آنتی بیوتیکی جلوگیری کننده از رشد باکتری های اصلی مولد این بیماری (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) بود.

حیوانات: سیصد و سی و هشت 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 می شد و در صورت مثبت بودن جهت انجام باکتریولوژی به آزمایشگاه انتقال داده می شد. در آزمایشگاه بعد از جداسازی و تشخیص باکتری ها آزمایش جهت سنجش کمترین غلظت آنتی بیوتیکی جلوگیری کننده از رشد باکتری ها (MIC) انجام می گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: مطالعه توصیفی.

نتایج: در این مطالعه حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، سفالکسین، آموکسی سیلین، آمپی سیلین، پنی سیلین، تتراسیکلین، استرپتومایسین، انروفلوکساسین و جنتامایسین بر روی ۲۰۰ باکتری شامل ۱۱۸ سویه استافیلوکوکوس آرنوس و ۸۲ سویه اشریشیا کلی جدا شده از اورام پستان مورد بررسی قرار گرفت. میزان شیوع ورم پستان بالینی و تحت بالینی به ترتیب ۶/۸ و ۶۷/۵ درصد بود. آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که صد درصد باکتری ها از هر دو گروه به پنی سیلین مقاوم و صد درصد این باکتری ها نسبت به جنتامایسین و انروفلوکساسین حساس بودند. برای اشریشیا کلی حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر برای آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، سفالکسین، آموکسی سیلین، آمپی سیلین، پنی سیلین، تتراسیکلین، استرپتومایسین، جنتامایسین و انروفلوکساسین به ترتیب ۱۱/۰، صفر، ۱۲/۲، ۲۰/۷، ۱۰۰، ۲۲، ۱۵/۹، صفر، و صفر درصد بود. برای استافیلوکوکوس آرنوس این میزان صفر، ۳۰/۳، صفر، ۱۰۰، ۳۸/۱، ۴۸/۳، صفر، و صفر درصد به دست آمد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۴، دوره ۶۰، شماره ۳، ۲۵۲-۲۴۷.

واژه های کلیدی: ورم پستان، مقاومت های آنتی بیوتیکی، MIC.

ورم پستان یکی از بیماری های مهم در گاو شیری و از عوامل عمده ضرر و زیان اقتصادی در صنعت پرورش گاو می باشد. عوامل مستعد کننده ای در گاو داریها وجود دارند که زمینه را برای نفوذ میکروارگانیسمها خصوصاً باکتری های بیماریزا در بافت پستانی فراهم می نمایند. عدم مدیریت صحیح، تمیز نبودن جایگاه و بستردام خصوصاً هنگام زایمان و پس از آن و از همه مهمتر عدم 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



گونه‌های باکتری بر طبق روشهای:

Edward and Ewing (1998) و Baron and Finegold (2001) انجام

پذیرفت (۵، ۷).

تهیه رقت مشخص از باکتری مورد استفاده در تحقیق: چند پرگنه از باکتری مورد آزمایش را از روی محیط آگار مغذی توسط لوب استریل برداشته و در محیط آبگوشت برین - هارت - اینفیوژن کشت داده و به مدت لازم در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده تا رشد باکتری با کدورت استاندارد مک فارلند ۵/۰ مطابقت نماید. متعاقباً رقت یک به ۲۰۰ از کشت باکتری تهیه می‌گردید (۱/۰ میلی لیتر از کشت اولیه به ۱۹/۹ میلی لیتر از محیط مایع مولر هینتون اضافه می‌شد).

تهیه رقت‌های متوالی از آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در تحقیق: ابتدا آنتی بیوتیک‌های مورد نظر در حلال‌های ویژه خود حل شده و سپس از هر آنتی بیوتیک غلظت ۶۴ میلی گرم در میلی لیتر (۶۴۰۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) و در محیط آبگوشت مولر - هینتون به نسبت یک به ۱۰ رقیق کرده که غلظت اولیه آنتی بیوتیک مورد استفاده ۶/۴ میلی گرم در میلی لیتر (۶۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) شود. سپس برای هر نمونه آنتی بیوتیک خاص، ۱۳ لوله آزمایش استریل و خشک در داخل راک چیده و مقدار یک میلی لیتر محیط آبگوشت مولر - هینتون در لوله‌های شماره ۲ تا ۱۰ و لوله‌های شماره ۱۱ و ۱۳ ریخته و مقدار ۲ میلی لیتر محیط آبگوشت مولر - هینتون در لوله‌های شماره ۱۲ ریخته، سپس یک میلی لیتر از آنتی بیوتیک مورد نظر را به لوله‌های شماره ۱۲ اضافه و پس از آن یک میلی لیتر از آنتی بیوتیک مورد نظر به لوله‌های شماره ۱، ۲ و ۱۳ اضافه می‌گردید. پس از مخلوط نمودن، یک میلی لیتر از لوله شماره ۲ برداشته و به لوله بعدی اضافه کرده و از لوله سوم به لوله بعدی و اینکار را تا لوله شماره ۱۰ ادامه داده و یک میلی لیتر آخر از لوله شماره ۱۰ در ریخته می‌شد (در این مرحله غلظت آنتی بیوتیک در اولین لوله ۶۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و در لوله شماره ۱۰، ۱۰/۱۲ میکروگرم در میلی لیتر بود). در پایان یک میلی لیتر از رقت یک به ۲۰۰ کشت باکتری مورد نظر را به لوله‌های شماره ۱ تا ۱۱ اضافه کرده و پس از مخلوط کردن به مدت یک شب در دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتیگراد گرمخانه قرار می‌گرفت (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 در نظر گرفته شد). سپس کدورت لوله‌ها با لوله‌های کنترل مقایسه می‌گردید (پس از افزودن رقت ۱ به ۲۰۰ کشت باکتری، غلظت آنتی بیوتیک در اولین لوله ۳۲۰۰ میکروگرم در میلی لیتر و در لوله شماره ۱۰، ۶/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر بود). برای تعیین حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC)، از کلیه لوله‌های شفاف بر روی محیط مکانکی آگار کشت داده می‌شد تا MBC نیز برای هر نمونه باکتری و ۴ آنتی بیوتیک مورد نظر به دست آید.

چگونگی تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری: (MBC) جهت تعیین MIC، آخرین لوله‌ای که باکتری در آن رشد نکرده و شفاف مانده بود (دارای کمترین مقدار آنتی بیوتیک)، به عنوان MIC شناخته می‌شد. برای تعیین MBC آخرین لوله‌ای که (دارای کمترین مقدار آنتی بیوتیک) باکتری‌های تلقیح شده به آن، کشته شده بودند و

اصول بهداشت به هنگام شیردوشی و استفاده نادرست از ماشین شیردوشی از عوامل مستعد کننده می‌باشند.

در بعضی از کشورها رعایت بهداشت در زمان شیردوشی و به کارگیری آنتی بیوتیک موارد ورم پستان را تقلیل داده است ولی حتی با وجود بهترین برنامه‌های پیشگیری کننده نیز ورم پستان در گله‌های گاو شیری وجود دارد (۶). در مواردی به کارگیری آنتی بیوتیک‌ها جهت درمان گاوهای مبتلا موثر نبوده و این به دلیل نبودن فرهنگ صحیح در مصرف داروهای ضد میکروبی و استعمال دوزهای ناقص است که منجر به بروز سویه‌های مقاوم باکتریایی می‌شود (۱۴). ایجاد مقاومت باکتریایی در مقابل آنتی بیوتیک‌ها از این جهت مهم است که در بسیاری موارد در هنگام بروز بیماری و زمانی که درمان با آنتی بیوتیک الزامی است، میکروارگانیزم‌های مقاوم شده به آنتی بیوتیک پاسخ نداده و درمان بیماری با شکست مواجه می‌شود. هر چه مقاومت دارویی باکتری‌ها افزایش یابد، حلقه محاصره اطراف آنتی بیوتیک‌ها تنگ تر می‌شود و روزی خواهد رسید که آنتی بیوتیک‌های موجود پاسخگوی عفونتهای متداول هم نخواهد بود (۱۳). برای جلوگیری از ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی، آزمایش تعیین حساسیت برای انتخاب آنتی بیوتیک مناسب می‌تواند موثر باشد. یکی از این آزمایشات که دارای دقت بالایی است، آزمایش تعیین حساسیت میکروارگانیزمها توسط لوله یا تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) می‌باشد (۳).

اهداف این تحقیق را می‌توان به طور خلاصه به صورت ذیل بیان داشت:

- الف - شناسایی گاوهای شیری مبتلا به ورم پستان بالینی و تحت بالینی در گاو‌داریهای اطراف شیراز به روش (California Mastitis Test) CMT.
- ب - جداسازی استافیلوکوکوس آرنوس و اشریشیا کلی که از عوامل مولد و مهم در ایجاد ورم پستان در گاوها می‌باشند.
- ج - سنجش کمترین غلظت جلوگیری کننده از رشد آنتی بیوتیک‌ها (MIC) بر روی استافیلوکوکوس و اشریشیا کلی جدا شده از ورم پستان

مواد و روش کار

نمونه گیری هر روز صبح و در اولین شیردوشی صورت می‌گرفت. ابتدا پستان گاوها با آب تمیز شسته و سپس خشک می‌گردید و بوسیله پنبه آغشته به الکل، سر پستانک‌ها به طور کامل ضد عفونی شده و ابتدا چند دوشش اولیه دور ریخته می‌شد و سپس آزمایش CMT بر روی هر نمونه شیر برابر توصیه و دستورالعمل (American Public Health Association 1974) انجام می‌گرفت. سپس مقدار ۱۰ میلی لیتر شیر در شیشه درب دار استریل جمع آوری و در کنار یخ به دانشکده حمل می‌شد.

در زمانی که هر گاو مورد آزمایش CMT قرار می‌گرفت علائم بالینی نظیر قرمزی پوست، سفت بودن نسج پستان و یا دیگر علائم ثبت می‌گردید. اگر پستان دام گرم، قرمز و دردناک بود، ورم پستان بالینی مورد نظر قرار می‌گرفت. نمونه‌هایی که بر اساس آزمایش CMT مثبت (+) به بالا) تشخیص داده می‌شدند مورد آزمایش باکتریولوژی قرار می‌گرفتند. جداسازی و تشخیص



جدول ۱- تعداد و درصد گاوان مبتلا به ورم پستان بالینی و تحت بالینی.

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

حساسیت باکتری به آنتی بیوتیک مورد آزمایش، از ایجاد مقاومتهای آنتی بیوتیکی نیز تا حد زیادی می توان جلوگیری نمود (۱۱). در این تحقیق مجموعاً تعداد ۳۳۸ رأس گاو شیری در مناطق 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 (جدول ۱).

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

از نمونه های آلوده بعد از جداسازی و خالص سازی باکتری، تعداد ۱۱۸ سویه باکتری استافیلوکوکوس آرتوس (۵۹ درصد) و تعداد ۸۲ سویه باکتری اشیشیاکلی (۴۱ درصد) جدا گردید. در تحقیقی که توسط Mishra و همکاران در سال ۱۹۹۶ در هندوستان انجام شد ۳۴/۱ درصد از باکتری های جدا شده از ورم پستان استافیلوکوکوس (۲۲/۷ درصد) آنها کوآ گولاز مثبت و ۱۱/۴ درصد کوآ گولاز منفی (۱۰) بودند. میزان زاده و همکاران نیز در مطالعه بر روی عوامل مولد ورم

نتیجه کشت آن بر روی آگار مکانکی منفی بود، به عنوان MBC مطلق در نظر گرفته می شد (۹).

نتایج

در این مطالعه تعداد ۳۳۸ رأس گاو شیری در مناطق مختلف اطراف شیراز (۸ گاو داری) مورد مطالعه قرار گرفت. از تعداد کل ۳۳۸ رأس گاو شیری مورد آزمایش، ۲۲۸ رأس (۶۷/۵ درصد) مبتلا به فرم ورم پستان تحت بالینی و ۲۳ رأس (۶/۸ درصد) مبتلا به فرم بالینی ورم پستان بودند (جدول ۱).

در این مطالعه شیر کارتیه هایی که از نظر CMT مثبت تشخیص داده شده بودند از نظر باکتریولوژی نیز مورد بررسی قرار گرفتند. سویه های استافیلوکوکوس آرتوس جدا شده ۱۱۸ نمونه (۵۹ درصد) و تعداد سویه های اشیشیاکلی جدا شده ۸۲ نمونه (۴۱ درصد) بود. علاوه بر این دو گونه باکتری، ارگانیسیم های دیگری از جمله استریپتوکوکوها (غیر بیما ریزا)، استافیلوکوکوس های کوآ گولاز منفی، پروتئوس و کلبسیلا نیز جدا شدند که نظریه کم اهمیت بودن آنها از نظر تولید ورم پستان مورد مطالعه بیشتر قرار نگرفتند.

حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر در مورد اشیشیاکلی برای آنتی بیوتیک های مورد آزمایش در جدول ۲ مشاهده می گردد. همچنین MIC کمتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر جهت استافیلوکوکوس آرتوس در جدول ۴ آمده است. میزان MBC در مورد اشیشیاکلی و استافیلوکوکوس آرتوس در جداول ۳ و ۵ مشاهده می گردد.

با توجه به نتایج موجود در جداول ۲ و ۳، MIC بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر برای ۹ آنتی بیوتیک، کلرامفنیکل، سفالکسین، آموکسی سیلین، آمپی سیلین، پنی سیلین، تتراسایکلین، استرپتومایسین، انروفلوکساسین و جنتامایسین، در برابر اشیشیاکلی به ترتیب معادل ۱۱، صفر، ۱۲/۲، ۲۰/۷، ۱۰۰، ۱۵/۹، ۲۲، صفر و صفر درصد و همچنین میزان MBC بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر برای همان آنتی بیوتیکها برای باکتری اشیشیاکلی به ترتیب معادل ۴۰/۲، ۱۹/۵، ۹۶/۳، ۴۸/۷، ۱۰۰، ۷۴/۴، ۲۹/۳، صفر و صفر درصد می باشد. با توجه به نتایج ثبت شده در جداول ۴ و ۵ میزان MIC بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر مربوط به آنتی بیوتیک های ذکر شده برای استافیلوکوکوس آرتوس به ترتیب ۳۰/۳، ۰، ۱۵/۳، صفر، ۳۸/۱، ۱۰۰، صفر و صفر درصد و میزان MBC بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر مربوط به آنتی بیوتیک های مورد استفاده در برابر استافیلوکوکوس آرتوس به ترتیب برابر ۴۶/۶، ۱۳/۵، ۸۴/۷، ۱۰۰، ۱۰۰، ۸۹، ۱۰۰، صفر و صفر درصد می باشد.

بحث

برای تعیین حساسیت گونه های مختلف باکتریایی نسبت به آنتی بیوتیک های رایج یکی از روشهای آزمایشگاهی اندازه گیری میزان کمترین غلظت مهار کننده رشد باکتری توسط آنتی بیوتیک است. با انجام این آزمایش علاوه بر مشخص نمودن داروی مؤثر روی نمونه باکتری مورد نظر با تعیین کمی



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

غلظت آنتی بیوتیک - نوع آنتی بیوتیک	<12/5	12/5	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	>6400
کلرامفنیکل	40/2 (33)	14/6 (12)	3/7 (3)	1/2 (1)	4/9 (4)	13/4 (11)	11/0 (9)					
سفالکسین	6 (5)	22/0 (18)	23/2 (19)	29/3 (24)	8/5 (7)	11/0 (9)						
آموکسی سیلین					3/7 (3)	9/8 (8)	18/3 (15)	25/6 (21)	34/1 (28)	3/7 (3)	4/9 (4)	
آمپی سیلین	25/6 (21)	9/8 (8)	4/9 (4)	11/0 (9)	8/5 (7)	18/3 (15)	3/7 (3)	4/9 (4)	1/2 (1)	12/2 (10)		
پنی سیلین جی									12/2 (10)	22/0 (18)	1/2 (1)	64/6 (53)
تتراسیکلین		25/6 (21)							12/2 (10)	19/5 (16)	25/6 (21)	
استرپتو مایسین	30/5 (25)	13/4 (11)	11/0 (9)	15/9 (13)	8/5 (7)	4/9 (4)	3/7 (3)	12/2 (10)				
انروفلو کساسین	100 (82)											
جنتامایسین	100 (82)											

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

غلظت آنتی بیوتیک - نوع آنتی بیوتیک	<12/5	12/5	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	>6400
کلرامفنیکل		57/3 (47)	31/7 (26)						11/0 (9)			
سفالکسین		17/1 (14)	32/9 (27)	42/7 (35)	7/3 (6)							
آموکسی سیلین		34/1 (28)	31/7 (26)	13/4 (11)	8/5 (7)	1/2 (1)	6/1 (5)				4/9 (4)	
آمپی سیلین		40/2 (33)	26/8 (22)	7/3 (6)	4/9 (4)	7/3 (6)	1/2 (1)	12/2 (10)				
پنی سیلین جی								18/3 (15)	20/7 (17)	13/4 (11)	9/8 (8)	37/8 (31)
تتراسیکلین		47/6 (39)	9/8 (8)	9/8 (8)	11/0 (9)	3/7 (3)	18/3 (15)					
استرپتو مایسین		42/9 (35)	15/9 (13)	9/8 (8)	15/9 (13)	3/7 (3)	12/2 (10)					
انروفلو کساسین	100 (82)											
جنتامایسین	100 (82)											

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 روم پستان گاو فعالیت بالایی دارد، که این فعالیت ضد باکتریایی نسبت به فلوموکوبین‌ها 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 فرآورده‌های دامی توسط انسان و در اثر عدم رعایت اصول بهداشتی در هنگام تهیه و مصرف این فرآورده‌ها 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

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

نتایج به دست آمده در این تحقیق ممکن است با سایر نتایجی که در نقاط دیگر به دست 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 آرفوس و اشریشیاکلی نسبت به انروفلوکساسین و جنتامایسین می‌توان دلیل آن را استفاده ناپیدا 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



جدول ۵- در صد و میزان (mg/ml) MBC (داخل پرانتز) مربوط به آنتی بیوتیک‌های مختلف علیه باکتری استاف آرئوس.

غلظت آنتی بیوتیک نوع آنتی بیوتیک	<12/5	12/5	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	>6400	
کلرامفنیکل	22/9 (13)	11/0 (13)	19/5 (12)	18/6 (22)	12/7 (15)	15/2 (18)							
سفالکسین			29/7 (35)	56/8 (67)	13/6 (16)								
آموکسی سیلین			11/0 (13)	11/2 (5)	2/5 (3)	14/4 (17)	15/3 (18)	18/6 (22)	23/9 (40)				
آمپی سیلین									56/8 (67)	28/0 (33)	10/2 (12)	5/1 (6)	
پنی سیلین جی									12/7 (15)	8/5 (10)	16/1 (19)	14/4 (17)	49/2 (58)
تتراسیکلین									7/6 (9)	39/8 (47)	15/3 (18)	19/5 (23)	17/8 (21)
استرپتو مایسین									11/0 (13)	13/6 (16)	21/2 (25)	17/8 (21)	12/7 (15)
انروفلو کسازین													100 (118)
جنتامایسین													100 (118)

جدول ۴- در صد و میزان (mg/ml) MIC (داخل پرانتز) مربوط به آنتی بیوتیک‌های مختلف علیه باکتری استاف آرئوس.

غلظت آنتی بیوتیک نوع آنتی بیوتیک	<12/5	12/5	25	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	>6400	
کلرامفنیکل	50 (59)	14/4 (17)			20/3 (24)		15/3 (18)						
سفالکسین			39/8 (47)	24/6 (29)	35/6 (42)								
آموکسی سیلین			28/0 (33)	15/3 (18)	2/5 (3)	28/8 (34)	9/3 (11)	1/7 (2)	12/7 (15)				
آمپی سیلین			50/8 (60)	26/3 (31)	22/9 (27)								
پنی سیلین جی									12/7 (15)	19/5 (23)	16/1 (19)	27/1 (32)	13/6 (16)
تتراسیکلین			22/9 (27)	23/7 (28)	15/3 (18)	20/3 (24)	17/8 (21)						
استرپتو مایسین									11/0 (13)	7/6 (9)	11/9 (14)		
انروفلو کسازین													100 (118)
جنتامایسین													100 (118)

References

۱. قراگزلو، ف.، و جگانی، 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. Carles, 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 Enterobacteriaceae, 6th edition. Burgess

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.

Publication Co., U.S.A.

8. Gedak, W. (1989): Antibacterial effect of new quinolines and nalidixic acid against bovine mastitis pathogens. Deutsche. Tierarztliche wochenschrift. 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 organisms. *Indian Vet. J.*, 66: 272-273.
15. Schalm, O.W., Jain, R.C., Corrol, E.J. (1991): *Bovine mastitis*. 3rd edition. Philadelphia, 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.

