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

رضا وجدی حکم آباد[1*]، مهران فرهودی مقدم[2]، مجید محمد صادق[3]، حمید میرزایی[4]، منصور خاکپور[5]

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: Rezavajdi@gmail.com
دریافت مقاله: ۱دی ۸۸، پذیرش نهایی: ۱۳ خرداد ۸۹

چکیده

هدف از این مطالعه شناسایی علل باکتریایی و تعیین درصد گاومیش‌ها و کارتیه‌های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی وارتباط آن با SCC در شهرستان تبریز می‌باشد. بدین منظور تعداد ۳۰۰ راس گاومیش بطور تصادفی انتخاب و از چهار کارتیه آن‌ها نمونه شیر به شکل مجزا اخذشد 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 کالیفرنیایی (CMT) ۲۳/۶۶ درصد گاومیش‌ها 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 (CNSs) بود. بر اساس آزمون آماری ANOVA اختلاف معنی داری در تاثیر نوع باکتریهای مختلف جداشده 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<۰/۰۵). بر اساس یافته‌های این تحقیق میزان شیوع ورم پستان تحت بالینی در این گونه تقریبا مشابه باگونه آناتولیایی وموراbوده و تست CMT دارای حساسیت و ویژگی قابل قبولی برای تشخیص آن می‌باشد. الگوی باکتریایی جدا شده از موارد عفونی تقریبا مشابه باگونه گاوبوده ولی به احتمال زیاد کلی فرمها در ورم پستان تحت بالینی گاومیش حائز اهمیت چندانی نمی باشند. پژوهشنامه دامپزشکی، ۱۳۸۹، دوره ۶، شماره ۲، ۱۶۷-۱۶۱.

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

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

Vajdi Hokmabad, R.[1*], Farhoudi Mogaddam, M.[2], Mohammad Sadegh, M.[3], Mirzaii, H.[4], Khakpour,M.[5]

[1]*Islamic Azad University, Miyaneh branch.*
[2]*Asistant Professor Department of clinical science, Veterinary faculty, Islamic Azad university, Karaj Branch, Karaj- Iran.*
[3]*Asistant 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]*Asistant 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 specifity 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 specifity 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.

مقدمه

پرورش گاومیش بیشتر معطوف به آب و هوای گرم و مرطوب و یا معتدل است و بیش از ۶ درصد شیر دنیا را تامین می‌کند. طبق آخرین آمار (۱۳۷۸) جمعیت گاومیش 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 می‌کنند. جمعیت گاومیش استان آذربایجان شرقی ۱۰۹۶۰۴ راس برآورد شده است که از گونه رودخانه‌ای و اکوتیپ آذری می‌باشند.

اگرچه در مقایسه با گاو، ورم پستان در گله‌های کوچک شیری گاومیش بندرت اتفاق می‌افتد اما ممکن است در گله‌های بزرگ گاومیش تبدیل به یک معضل جدی شود(۳،۸،۳۱). معمولاً در شکل تحت بالینی ورم پستان، وضعیت پستان و ترشح شیر به ظاهر طبیعی می‌باشد اما تولید شیر و میزان ماده خشک آن کاهش و میزان لکوسیت‌ها و عوامل پاتوژن موجود در آن افزایش می‌یابد. افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک(SCC) موجود در شیر بطور مستقیم توسط شمارش بادستگاه فوزوماتیک یا بطور غیرمستقیم توسط آزمایش ورم پستان کالیفرنیایی (CMT) مشخص می‌شود که نشان دهندهٔ حضور واکنش‌های التهابی در شیر است (۱،۲۴) و جهت تایید نهایی ورم پستان تحت بالینی از کشت شیر استفاده می‌شود.

کاهش تولید شیر در کارتیه 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 گاومیش انجام شده اغلب در کشورهای هندوستان و برزیل بوده است. در برزیل (۱۹۹۶) از یک مورد ورم پستان تحت بالینی در گاومیش‌های رودخانه‌ای، 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 گاومیش‌های منطقه، ۵ تیپ کلونی استاف آرئوس بدست آمده که در همه گونه‌های حیوانی مشابه بوده اند و پیشنهاد شده که در مقایسه با استاف آرئوسهای نشأت گرفته از انسان بجز یک کلونی، همگی مختص حیوانات می‌باشند(۲).

این مطالعه جهت شناسایی علل و تعیین درصد گاومیش‌ها و کارتیه‌های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و ارتباط آن با SCC در گاومیش‌های اکوتیپ آذری در شهرستان تبریز انجام گرفت.

مواد و روش کار

در این مطالعه جامعه آماری شامل گاومیشهای ماده ی بالغ و شیرده شهرستان تبریز (حدود ۳۰۰۰ راس) می‌باشد که از بین آن‌ها بر اساس فرمول:

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

و با لحاظ $\alpha=0/05$، $N=3000$، $d=0/05$، $P=\%30$ تعداد ۳۰۰ راس گاومیش (۱۲۰۰ کارتیه) به‌طور تصادفی جهت مطالعه انتخاب شدند. سن گاومیش‌ها بین ۲ تا ۱۵/۵ سال (متوسط ۶ سال)، دفعات زایمان آن‌ها ۱ تا ۱۳ بار (متوسط ۳/۳۱)، و وزن آن‌ها ۸۰۰-۲۵۰ کیلوگرم (متوسط ۴۳۵/۵ کیلوگرم) بود. همه گاومیش‌ها به لحاظ بالینی سالم و نمونه شیر اخذ شده دارای ظاهر طبیعی بود. متوسط تولید شیر گاومیش‌ها (۱/۹ ± ۴/۹۳) کیلوگرم در روز بود که در دو نوبت صبح و غروب دوشیده می‌شدند. در بیشتر موارد آماده سازی قبل از دوشش و ضد عفونی پس از دوشش در هیچکدام از گاومیش‌ها صورت نمی‌پذیرفت. نمونه گیری در نوبت صبح و پس از تمیز و خشک کردن کارتیه‌ها (در صورت آغشتگی به مدفوع) از ابتدا تا انتهای فصل زمستان انجام گرفت. هر یک از کارتیه‌ها 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 گوده‌های ظرف مخصوص آزمایش ورم پستان کالیفرنیایی (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 کارتیه‌ها، شیر به شکل مجزا در داخل ظرف استریل دارای بر چسب با فاصله و زاویه مناسب بمقدار حدودا 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 کارتیه‌ها و پس از مخلوط کردن شیر هر یک از آن‌ها به شکل مجزا، در ظروف مخصوصی اقدام به نمونه گیری شد (نمونه گیری از کل دوشش و به شکل مجزا

جدول۱- 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 گم‌شده	۱۵	۱/۲
کل	۱۲۰۹	۱۰۰

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 و +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 آرئوس 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 ≤۵۰۰cfu/ml و ۱ 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 ۵۰۰cfu/ml با هر نوع میکروارگانیسمی داشته باشند غیر آلوده هستند(۱۷).

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

جدول۲- میانگین فاصله‌ای SCC و SCS درکارتیه‌های با امتیازهای مختلف CMT با شمارش سلولی شیر.

درجه CMT	تعداد کارتیه	میانگین $SCC\times10^3$	میانگین SCS	$10^3\times$مقدار حداکثر	$10^3\times$مقدار 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

۱ـ درصد کارتیه وگاومیش‌های عفونی:

بر اساس آزمایش ورم پستان کالیفرنیایی (CMT) از مجموع ۱۲۰۰ کارتیه ۱۶۷ مورد (۱۳/۸۷درصد) و از مجموع ۳۰۰ راس گاومیش ۷۱ راس (۲۳/۶۶درصد) مبتلا به ورم پستان تحت بالینی تشخیص داده شدند. بر اساس کشت و شمارش میکروبی ۳۴ کارتیه از مجموع ۱۲۹ مورد نمونه برداری شده، ۲۶/۳۵درصد کارتیه‌ها مبتلا به عفونت داخل پستانی (IMI) بودند. فراوانی و درصد کارتیه‌ها از لحاظ نوع واکنش در آزمون CMT در جدول۱ قابل مشاهده است.

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

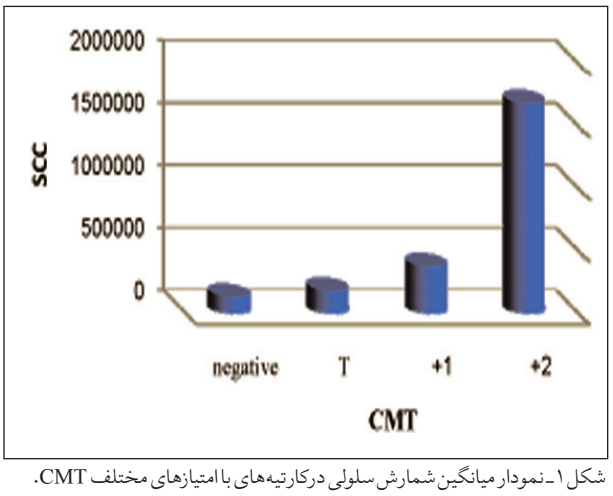
۲- شمارش سلول‌های پیکری شیر SCC:

مقادیر میانگین SCC و SCS در گروههای مختلف CMT در جدول۲ و شکل۱ 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



شکل ۱ ـ نمودار میانگین شمارش سلولی درکارتیه‌های با امتیازهای مختلف CMT.

نداشتند (جدول۳). از تعداد ۱۵۰نمونه کشت داده شده۳۴ نمونه مبتلا به IMI، ۱۱۰ نمونه بر اساس تفسیر کشت میکروبی (۱۷) سالم و ۶نمونه آلوده تشخیص داده شدند. بیشترین میزان SCC در میان کارتیه‌های عفونی مربوط به آلودگی با باکتری کورینه باکتریوم بوویس با میانگین ($۴۵۳/۱\times۱۰^{۴}$) و کمترین تعداد آن مربوط به آلودگی با ترکیب میکروبهای باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس 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 ($\alpha=۰/۰۵$) تفاوت بین شمارش سلولی و باکتریایی شیر در کارتیه‌های سالم و عفونی دارای اختلاف معنی دار بود($p<۰/۰۵$)(جدول۴).

بحث

یکی از بیماریهای پر هزینه در صنعت تولید شیر ورم پستان است و با اینکه گاومیش 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). گاومیش‌ها دارای یکسری مشخصات هستند که باعث ریسک پذیری آن‌ها به ورم پستان می‌شود. برای مثال پستان خیلی آویزانتر و کارتیه‌ها در مقایسه با گاو طولانی تر هستند. ولی برعکس در گاومیش کانال سر پستانک باریک و دراز است که بنظر می‌رسد مانع از تهاجم میکروارگانیسمها می‌شود.

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

جدول۳- باکتری‌های جدا شده از عفونت‌های داخل پستانی و فراوانی آن‌ها.

نام باکتری جدا شده	فراوانی	درصد	میانگین SCC×103
استافیلوکوکوس آرئوس	۱	۲/۹۵	۶۵
استافیلوکوکوس آرئوس + استرپتومایسس	۱	۲/۹۵	۹۸
استافیلوکوکوس آرئوس + 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 ساپروفیتیکوس	۶	۱۷/۶۴	۱۰۸
استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس + پروتئوس میرابیلیس	۱	۲/۹۵	۲۵۵
استافیلوکوکوس سیمیولنس	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 ساپروفیتیکوس + باسیلوس سوبتیلیس	۱	۲/۹۵	۲۳
استافیلوکوکوس سیمیولنس + 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 حالی‌که در پاکستان طی مطالعه ی مشابهی با استفاده از CMT درگاومیش‌ها، ۶/۷ درصد کارتیه‌ها مبتلا شناخته شدند(۳). آلاچام و همکارانش در ترکیه با استفاده از CMT، میزان ورم پستان تحت بالینی را درگاومیش‌ها متغییر و بین ۴/۷ تا ۱۶/۳ درصد گزارش کردند(۴). در این مطالعه نیز بر اساس آزمایش ورم پستان کالیفرنیایی (۱۳/۸۷ درصد) کارتیه‌ها و (۲۳/۶۶ درصد) گاومیش‌ها 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 مطالعه ی (Moroni,P., 2006) در ایتالیا با استفاده از کشت میکروبی در ۴۶ گاومیش و ۱۹۱۲ نمونه شیر، میزان IMI بالا بوده و ۶۳ درصد کارتیه‌ها و همه گاومیش‌ها 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 گاومیش 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.

جدول۴- مقایسه میانگین تعداد SCC, SCS, TBC در کارتیه‌های عفونی و سالم.

	کارتیه	تعداد	میانگین	انحراف معیار	خطای استاندارد میانگین
SCC*	سالم	۹۵	۲۲۱/۸۲۱×۱۰^{۳}	۱۸۵/۵۲۳×۱۰^{۳}	۱۹/۰۳۴×۱۰^{۳}
	عفونی	۳۲	۷۷۹/۲۰۳×۱۰^{۳}	۲۴۱۷/۰۹۶×۱۰^{۳}	۴۲۷/۲۸۶×۱۰^{۳}
SCS	سالم	۹۵	۳/۶۸	۱/۲۷	۰/۱۳
	عفونی	۳۲	۴/۲۱	۱/۷۵	۰/۳
TBC*	سالم	۹۵	۹۷/۷۰۵	۱۲۸/۵۳	۱۳/۱۸
	عفونی	۳۴	۶/۸۹۴×۱۰^{۳}	۱۶/۰۲۲×۱۰^{۳}	۲/۷۴۷×۱۰^{۳}

* اختلاف معنی دار بین کارتیه‌های سالم و عفونی وجود دارد ($p<0/05$).

در گاو SCC کمتر از ۱۰^{۳}×۱۰۰ سلول در هر میلی لیتر شیر طبیعی و بالاتر از ۱۰^{۳}×۲۰۰ غیر طبیعی و نشان دهنده ورم پستان تلقی می‌شود (۱۲). داکال طی مطالعه‌ای روی ۶۰ گاومیش نژاد مورا در نپال و هندوستان، میزان SCC طبیعی شیر گاومیش را ۱۰^{۳}×۱۵۱ سلول در هر میلی لیتر تعیین کرد (۱۲). وآقای ازنک در ترکیه حد آن را ۱۰^{۳}×۱۳۰ در گاومیش‌های 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 گاومیش می‌تواند بدلیل فعالیت فاگوسیتی متفاوت نوتروفیل‌ها در گونه‌های مختلف باشد. همچنین این اختلاف در غلظت آنزیم هیدرولازها (لیزوزیم) گزارش شده است(۲۵) که می‌تواند روی میزان SCC مورد نیاز جهت فعالیت فاگوسیتی در هر گونه تاثیر بگذارد.

کشت تک تک کارتیه‌ها برای مشخص شدن کارتیه درگیر و یا کشت شیر مخلوط شده چهار کارتیه در یک گاو بعنوان قسمتی از آزمایش گله برای بررسی ورم پستان می‌تواند بکار رود.

شیوع عفونت داخل پستانی بر اساس کشت از یکصد هزار راس گاو در یک مطالعه در نیویورک و پنسیلوانیا ۵۰درصد بود. و بیشترین باکتری جدا شده از کارتیه‌های عفونی گونه‌های استافیلوکوکوس و استرپتوکوکوس بود. نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که باکتری‌های گرم منفی عامل شایع IMI و ورم پستان نیستند(۱۰). یک مطالعه در انگلیس(۱۹۷۷) شیوع ورم پستان استافیلوکوکی و استرپتوکوکی را ۳۲درصد گزارش کرد و نشان داد که ۷۰درصد گاوهای انگلیس آلوده به کورینه باکتریوم بوویس هستند(۳۴). شیوع ورم پستان در ۲۵ گله شیری استرالیا (۶۳/۴درصد) گزارش شده است(۳۳) و در گزارشی دیگر (۱۹۷۴) از ۳۵ گله شیری شیوع ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس آرئوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه و گونه‌های استرپتوکوکوس کلا ۳۴درصد بود (۱۹). در مطالعه (Sears, P. et al.,1993) شیوع ورم پستان ناشی از ای کولای و کلبسیلا خیلی کم بود(۰/۶درصد)، وعنوان شد که این پاتوژنها گاها 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 گاومیش با استفاده از کشت ۲۶/۳۵درصد بود که تقریبا مشابه با گونه گاو شیری می‌باشد. در مطالعات مشابهی روی گاومیش نتایج متنوعی بدست آمده است. برای مثال در تحقیقی در هندوستان با استفاده از کشت میکروبی ۲۱/۷درصد گاومیش‌ها و ۸درصد کارتیه‌ها در دوشش ابتدایی دارای ورم پستان تحت بالینی بودند(۱۲). در حالیکه در ایتالیا همه گاومیشها آلوده گزارش شدند(۱۷).

حساسیت بالای(۷۰درصد) CMT در تشخیص کارتیه‌های مبتلا به پاتوژنهای اصلی نشان می دهدکه می توان از این آزمایش در تشخیص این موارد استفاده کرد ولی برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی کارتیه‌های مبتلا به سایر باکتریها بدلیل حساسیت متوسط آن (۵۵درصد) بهتر است از CMT به همراه کشت باکتریایی استفاده شود ولی با توجه به ویژگی نسبتا خوب آن (۶۷/۳۹درصد) در تشخیص کارتیه‌های سالم گاومیش استفاده از آن توصیه می‌شود. در مطالعه مشابه انجام شده روی گاومیشهای آناتولیایی (۲۰۰۸) حساسیت و ویژگی این آزمایش برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی کارتیه‌های مبتلا به همه باکتری‌ها بترتیب (۴۵/۶درصد) و (۹۰/۴درصد) تعیین شد(۲۲).

در مطالعات قبلی شایع‌ترین نوع باکتری جدا شده از نمونه‌های شیر گاومیش بترتیب استافیلوکوکهای کوآگولاز منفی (CNSs)، گونه‌های کورینه باکتریوم و استرپتوکوکها می‌باشند(۲۶و۲۳،۲۰،۹،۷). در مطالعه دیگری استافیلوکوکوس آرئوس مهمترین میکروارگانیسم مسئول ورم پستان در گاومیش بود (۱۴) و در مطالعه CNS (Moroni,P., 2006)ها شایعترین پاتوژن بودند (۶۶درصد نمونه‌های مثبت) و گونه‌های استرپتوکوکوس، باسیلوس و پروتئوس بترتیب با ۱۵درصد، ۲/۱درصد و ۰/۲درصد در رده‌های بعدی قرار داشتند (۱۷). در این مطالعه نیز بیشترین باکتریهای جدا شده گونه‌های استافیلوکوک و بخصوص CNSها بودند و باکتریهای گرم منفی جدا شده

عامل ایجاد کننده عفونت شناخته نشدند.

SCC به شکل واضحی در کارتیه‌های عفونی بالا بود. ولی اختلاف معنی داری در تاثیر نوع باکتری‌های جدا شده از کارتیه‌های مبتلا روی میزان SCC مشاهده نشد. میانگین SCS در کارتیه گاومیش‌های مبتلا به عفونت خیلی کمتر از گاوهای شیری مبتلا به IMI می‌باشد به‌طوری‌که میانگین آن در کارتیه‌های عفونی ۴/۲۱ بود. در حالی‌که 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 کارتیه ها تقریبا شبیه موارد گزارش شده برای گاوشیری می‌باشد (۲۷). نتایج بدست آمده از مطالعه .et al Ceron- Munoz در برزیل (۱۸) برروی گاومیش‌ها نشان داده که با افزایش SCC شیر مقدار تولید کاهش می‌یابد. با این حال اتحادیه اروپا محدوده ۴۰۰ هزار سلول را برا ی مصرف شیر گاومیش مقرر کرده است.

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این تحقیق میزان شیوع ورم پستان تحت بالینی در این گونه تقریبا 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 گاومیش در دسترس نیست، استفاده از CMT می‌تواند یک روش جایگزین راحت باشد، اگرچه برخی از کارهای اخیر نشان داده که همبستگی کمی بین SCC وCMT 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 گاومیش 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 انجام آزمایشهای مربوط به باکتریولوژی.

منابع

۱) محمد صادق، م. (۱۳۷۹) دانستنی‌های روز در ورم پستان گاو. تهران، چاپ اول، انتشارات آییژ.

2. 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.
3. Ahmad, R. (2001) studies on mastitis among dairy buffaloes, *Pakistan. Vet. J.*, **21**: 220-221.
4. 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.
5. Badran, A. E. (1985) Genetic and environmental effects on mastitis disease in Egyptian cows and buffaloes. *Indian J. Dairy Sci*, **38**:230-234.
6. 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.
7. Chander, S.,Baxi, K. K.(1975) Note on diagnosis and treatment of subclinical mastitis in buffaloes. *Indian Vet. J*, **52**:847-849.
8. Cockrill, W.R. (1993) Water Buffalo. In: Chamberlain, A. Ed. Milk Production in the Tropics. Longman Group, England. 192-202.
9. 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.
10. 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 Yeld 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 laction in Anatolian buffaloes, *Turk. J. Vet. Anim. Sci*. **32(5)**: 359-368
23. Paranjabe, V. L., Das, A. M. (1986) Mastitis among buffalo populationof 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 Buffalos 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.