

تعیین ارتباط میان باکتری‌های جدا شده با یافته‌های اولتراسونوگرافی و اکومورفومتريک پستان، مخزن و سرپستانک گاوهای شیری مبتلا به ورم پستان

امیر فرجامی مقدم^۱، مجید محمدصادق^{۲*}

۱- دانش آموخته دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۰

چکیده

به منظور تعیین شاخص‌های اولتراسونوگرافی پستان در گاوهای مبتلا به ورم پستان ۳۰ رأس گاو مبتلا به ورم پستان کلینیکی که در شیر چرک، در پستان ورم، درد و قرمز شدن و گاه علائم عمومی را نیز نشان دادند انتخاب شدند. قطر کانال سرپستانک، مجاری شیری مخزن پستان و آلئول‌های پارانشیم غدد شیری در بالای پستان مبتلا با پراب ۷ مگاهرتز رکتال ارزیابی شد. موارد فوق در پستان سالم مقابل به‌عنوان گروه شاهد نیز برآورد گردید. نمونه شیر از پستان آلوده تهیه و در آزمایشگاه کشت داده شد. در پایان شاخص‌های اولتراسونوگرافی فوق در دو گروه ورم پستانی و سالم با آزمون آماری غیرپارامتری من ویتنی-یو و ویلکاکسون رنک و نیز آزمون پارامتری Student T مقایسه شد. قطر سرپستانک در سالم‌ها (۰/۸ cm = میانگین و ۰/۶۷ ± ۰/۸۲)، در ورم پستان‌ها (۰/۹۷ cm = میانگین و ۰/۱۳ ± ۰/۹۹) ($P < 0.05$)، قطر اپیتلیوم مخزن شیر پستان در سالم‌ها (۰/۶۵ cm = میانگین و ۰/۱۷ ± ۰/۶۸)، در ورم پستان‌ها (۰/۶۵ cm = میانگین و ۰/۱۸ ± ۰/۶۸) ($P > 0.05$)، قطر آلئول‌ها در سالم‌ها (۰/۹ cm = میانگین و ۰/۳۱ ± ۰/۹۸) و در ورم پستان‌ها (۰/۸ cm = میانگین و ۰/۳ ± ۰/۸۸) ($P > 0.05$) بود. باکتری‌های استاف اورئوس (۱۲ مورد)، استرپتوکوک بیوریس (۴ مورد) تروپیرلا پیوژنز (۲ مورد) و کورینه باکتریوم بیوریس (۲ مورد) از موارد ورم پستانی جدا شد ولی توزیع آن‌ها در بین درجات مختلف ورم پستان اختلاف معنی‌داری نداشت. از این تحقیق نتیجه‌گیری شد که از میان شاخص‌های قطر سرپستانک، مخزن شیر پستان و آلئول‌های پستانی تنها قطر سرپستانک در موارد ورم پستانی افزایش نشان داد. ارتباطی میان نوع باکتری جدا شده و محل التهاب در ورم پستان یافت نشد.

کلمات کلیدی: ورم پستان، شاخص‌های اولتراسونوگرافی پستان، قطر اپیتلیوم سرپستانک، مخزن شیر و آلئول پستانی

*نویسنده مسئول: مجید محمدصادق

آدرس: دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران.

پست الکترونیک: Dr.msadeg@gmail.com

مقدمه

ورم پستان رایج‌ترین سندرم در صنعت گاو شیری و مسئول ۳۸ درصد کل بیماری‌های دام شیری است (۱۷). در گذشته به التهاب غده پستان ورم پستان گفته می‌شد ولی از آنجا که این تعریف بیشتر موارد دارای علائم، التهاب را شامل می‌شود و موارد ورم پستان غیر کلینیکی یا مخفی را در بر نمی‌گیرد در حال حاضر ورم پستان به بروز پاسخ سیستم دفاعی پستان اطلاق می‌شود که نشانه‌های کلینیکی آن ممکن است قابل مشاهده و یا غیر قابل مشاهده باشد. در موارد غیر قابل مشاهده تغییراتی در کمیت و کیفیت شیر قابل بررسی است. در مدت ابتلا دام به ورم پستان تولید لاکتوز، چربی، مواد جامد غیر چربی موجود در شیر و کازئین آن کاهش می‌یابند در حالی که پروتئین، سدیم، کلر، PH و اسیدهای چرب آزاد موجود در شیر افزایش نشان می‌دهند (۱).

حضور عامل بیماری‌زا در پستان و به دنبال آن پاسخ سیستم ایمنی در نوع کلینیکی شامل بروز انواع درجات التهاب حاد یا مزمن است و در نوع مخفی یا غیر کلینیکی شامل افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک و کاهش تولید شیر است بنابراین سندرم ورم پستان طیفی از حالات بسیار شدید همراه با واکنش عمومی و توکسمی تا حالات خفیفی است که تنها در برخی موارد لخته‌های چرک در شیر دیده می‌شود. ورم پستان غیر کلینیکی یا مخفی بدون علائم ظاهری و نشانه‌های کلینیکی است و تنها از راه آزمایش‌های مختلف مشخص می‌شود (۳). نشانه‌های عمومی ورم پستان کلینیکی شامل غیر قابل خوردن (شور شدن مزه) و یا غیر طبیعی بودن ترشحات شیر (تغییر رنگ، وجود لخته لخته)، کاهش و گاه قطع تولید شیر و پیدایش تعداد زیادی لکوسیت در شیر، غیر طبیعی بودن اندازه تور،

قوام (سفت شدن)، گرمی و درد در پستان و مواردی نیز بروز واکنش عمومی (آب، کاهش حرکات شکمبه، کاهش اشتها و گاه اسهال و سقط و ...) است. نشانه اصلی ورم پستان غیر کلینیکی نیز کاهش تولید و ماده خشک شیر به ظاهر سالم است. میزان کاهش تولید شیر به نوع عامل بیماری‌زا، شدت علائم عمومی و مرحله شیردهی بستگی دارد. در اوایل شیردهی ورم پستان سبب کاهش بیشتری در تولید شیر می‌شود (۱۳).

باکتری‌ها مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های مولد ورم پستان و یا جراحات سرپستانک می‌باشند هر چند که قارچ‌ها نیز در بروز ورم پستان و ویروس‌ها نیز در بروز جراحات سرپستانک مطرح هستند. در مجموع بیش از ۱۴۵ گونه، تحت گونه و سرو تیپ میکروبی از غدد پستانی گاو جدا شده است (۱۳). از این تعداد مواردی را که قادر به ایجاد ورم پستان هستند در سه گروه پاتوژن‌های اصلی (Major pathogen)، پاتوژن‌های فرعی (Minor pathogen) و پاتوژن‌های غیر معمول مولد ورم پستان قرار می‌دهند. عوامل اصلی مولد ورم پستان بر حسب کانون عفونت و نحوه انتقال به انواع مسری و محیطی تقسیم می‌شوند (۱۳). در گروه عوامل اصلی، باکتری‌های مسری مانند استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و مایکوپلاسما بوویس و باکتری‌های محیطی مانند اشریشیا کلی و دیگر کلی فرم‌ها (گونه‌های کلبسیلا و آنتروباکتر)، تروپیرلا پیوژنز و استرپتوکوکوس‌های محیطی (مانند یوبریس) قرار می‌گیرند (۸). در گروه عوامل فرعی، باکتری‌های فرصت طلبی مانند کورینه باکتریوم بوویس و استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی قرار می‌گیرند که در داخل پستان و مجرای سرپستانک (کورینه) و یا پوست سرپستانک به صورت فرصت طلب زندگی

آلودگی‌های جلبکی شامل پروتوتکا تریسپورا (*Prototheca trispora*) و پروتوتکا زوفیسی (*Prototheca zopfii*) نیز از دیگر علل کمتر رایج ایجاد کننده ورم پستان هستند (۱۳).

در روند ایجاد ورم پستان سه مرحله ایجاد و گسترش پرگنه، تهاجم به بافت و بروز التهاب دیده می‌شود. باکتری‌های مختلف به دلیل عوامل حدت مختلف و نیز علاقه مندی‌های مانند چربی‌های موجود در لاینر نوک سرپستانک در مورد کورینه بویس به بافت‌های مختلفی از پستان علاقه نشان می‌دهند. استاف اورئوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه نیز در بالای پستان، در محل استقرار آلونول‌های شیری و مجاری آن‌ها التهاب ایجاد می‌کنند. به همین دلیل در تشخیص نوع ورم پستان سعی می‌شود با لمس پستان محل ایجاد درگیری شناسایی شود تا از آن طریق بتوان نوع باکتری و درمان مناسب با آن شناسایی شود (۸).

شناسایی باکتری مولد ورم پستان بیشتر در موارد کنترل ورم پستان انجام می‌شود. به این منظور از آزمایش باکتری‌شناسی، PCR، کیت‌های تشخیص تفریق، کیت‌های تشخیص سریع (برای تفکیک گرم مثبت از گرم منفی) و بررسی یافته‌های در مانگاهی استفاده می‌شود. در موارد درمان ورم پستان حدود ۷۵ تا ۸۰٪ موارد از نوع ورم پستان تحت حاد هستند که در آن‌ها فقط شیر تغییرات پاتولوژیک نشان می‌دهد و حدود ۱۵ تا ۲۰٪ موارد نوع حاد است که پستان و شیر در آن‌ها تغییرات پاتولوژیک نشان می‌دهد به‌طور معمول در چنین مواردی بدون انجام کشت شیر و شناسایی باکتری اقدام به استفاده از پماد پستانی می‌شود ولی در همین موارد هم اگر بتوان از روی اطلاعات در مانگاهی نوع گرم مثبت یا گرم منفی بودن عامل را تشخیص داد در انتخاب پماد پستانی مفید خواهد بود. در موارد فوق حاد

می‌کنند (۸) و در شرایط خاصی مانند عدم استفاده از مواد ضد عفونی به ندرت بیماری‌زا می‌شوند (۳).

غیر از مواردی که به عنوان عاملین مولد ورم پستان تا به حال نام برده شده‌اند، تعداد زیادی از دیگر پاتوژن‌ها نیز می‌توانند باعث ورم پستان حاد شوند که البته بیشتر به صورت انفرادی دیده می‌شوند. این عوامل شامل: تروپیرلا پیوژنز (*Troeprella pyogenos*)، نوکاردیا آستروئیدس (*Nocardia Asteroides*)، نوکاردیا برازیلیانسیس (*N. brasiliensis*)، نوکاردیا فارسنیکا (*N. farcinica*)، هیستوفیلوس سومنی (*Hystophilus sumni*)، پاستورلا مولتیسییدا (*Pasteurella multicida*)، مانهمیا همولیتییکا (*Mannheimia haemolytica*)، کامپیلوباکتر ژوژنسی (*Campylobacter jejuni*)، مایکوباکتریوم بوویس (*Mycobacterium bovis*) و باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*) است (۱۳ و ۸). باکتری‌های بی‌هوازی که از موارد ورم پستان جدا سازی شده است معمولاً همراه با باکتری‌های هوازی اختیاری مثل پیتوکوکوس ایندولیکوس (*Pertococcus Indolicus*)، باکتریوئیدس ملانینوژینکوس (*Bacteroides melaninogenicus*)، یوباکتریوم کومبزی (*Eubacterium combesii*)، کلسترید یوم اسپوروژنز (*Colostridium sporogenes*) و فوزوباکتریوم نکروفروم (*Fusobacterium necrophorum*) است. آلودگی‌های قارچی مثل تریکوسپورون‌ها (*Trichosporon spp.*)، آسپرژیلوس فومیگاتوس (*Aspergillus fumigatus*)، آسپرژیلوس نیدولانس (*A. nidulans*) و *pichia spp* و آلودگی‌های ناشی از مخمرهایی مثل کاندیداها (*Candida spp.*)، کریپتوکوکوس نئوفورمنس (*Cryptococcus neoformans*) و ترولوپسیس‌ها (*Torulopsis spp.*) و

مقایسه تفاوت احتمالی محل التهاب در انواع باکتری‌های مولد ورم پستان بود.

مواد و روش کار

در این پژوهش ۳۰ رأس گاو در محدوده وزنی ۴۵۰-۵۵۰ کیلوگرم و در محدوده سنی ۲ تا ۶ شکم زایش مبتلا به ورم پستان کلینیکی با علائم درد در پستان، ورم، قرمز شدن و ترشحات حاوی چرک که گاه علائم عمومی را نیز نشان می‌دادند و هیچ‌گونه دارویی توسط دامدار دریافت نکرده بودند؛ ردیابی و برای آزمایش آماده شدند. پس از معاینه بالینی و ثبت مشخصات، برای اخذ نمونه شیر آماده شدند. گاوهای مبتلا در تراوا مقید شدند و پس از شستشوی کامل پستان و سپس خشک کردن آن، ضدعفونی سرپستانک به وسیله پنبه الکل انجام گرفت و طبق اصول نمونه‌گیری شیر، یک مرحله پیش‌دوشی (رگ‌زدن) قبل از اخذ نمونه شیر انجام شد تا احتمال آلودگی‌های ثانویه به حداقل برسد. سپس ظرف استریل نمونه‌گیری آماده و در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از پستان، سرپستانک را در زاویه ۴۵ درجه قرار داده شد تا علاوه بر کنترل آلودگی‌ها، عوامل خارجی کمترین تاثیر منفی را در نتایج داشته باشد. پس از اخذ نمونه شیر و درج مشخصات آن‌ها، در کنار یخ در یخچال کائوچویی حمل و در مدت زمان کمتر از ۱ ساعت به آزمایشگاه ارجاع داده شدند.

برای انجام تکنیک اولتراسونوگرافی در قسمت‌های موردنظر در پستان (قطر کانال سرپستانک، مجاری شیری مخزن پستان و آلوئول‌های پارانشیم غدد شیری) پراب ۷ مگاهرتز دستگاه اولتراسونوگرافی SIUI (CTS-800, China) مورد استفاده قرار گرفت. به این صورت که برای ثبت تصاویر اولتراسونوگرافی مربوط به سرپستانک، ظرف مخصوص حاوی آب که محل

که علائم عمومی نیز در دام مشاهده می‌شود قبل از اقدام به درمان نمونه شیر تهیه و در شرایط یخچال و یخ‌زن نگهداری می‌شود تا اگر اقدامات درمانی مؤثر نبود برای شناسایی باکتری از آن استفاده شود (۱۳ و ۸). یافته‌ها نشان داده‌اند که کشت نمونه شیر حدود ۸۰٪ و بررسی یافته‌های درمانگاهی حدود ۷۵٪ در شناسایی نوع باکتری موفق است (۱۳)؛ بنابراین یافته‌های درمانگاهی حداقل در حد تعیین نوع درمان مناسب می‌تواند مفید باشد. در صورتی که بتوان از طریق یافته‌های اولتراسونوگرافی موفقیت دامپزشک را در شناسایی باکتری از روی نشانه‌های درمانگاهی افزایش داد گام باارزشی تلقی خواهد شد.

شاید Caruolo and Mochrie برای اولین بار در سال ۱۹۶۷ از اولتراسونوگرافی A-mode با پراب ۱ مگاهرتز در بررسی موفق سرپستانک گاو استفاده کرد. (۶) سپس Cartee و دیگران در ۱۹۸۶ از اولتراسونوگرافی B-mode به همین منظور استفاده کرد. (۵) Stocker و دیگران در ۱۹۸۹ سرپستانک در گیر را دارای نواحی نامشخص هیپراکوئیک توصیف کرده است (۱۸). بسیاری از محققین مانند Saratis و دیگران (۱۹۹۳) کانال سرپستانک را به صورت یک یا دو خط هیپراکوایک توصیف کرده‌اند (۱۵). اولتراسونوگرافی ارزان‌تر و بسیار سریع‌تر از کشت باکتری در آزمایشگاه است به همین دلیل اگر این روش بتواند با نشان دادن کانون التهاب در ورم پستان برحسب نوع باکتری، دامپزشک را در یافتن نوع باکتری و انتخاب داروی مناسب براین اساس یاری کند راه خود را در درمان ورم پستان کلینیکی باز خواهد کرد؛ بنابراین هدف از این تحقیق از یک سو بررسی توان اولتراسونوگرافی در یافتن کانون بروز التهاب در پستان و از سوی دیگر

باکتری کشت در محیط‌های تشخیص تفریقی نترات، ژلاتین، شیرتورنوسله، Sulfide-Indol-Motility (SIM)، اوره، سرم منعقد و Manitol Salt (MSA) Agar، طبق دستورالعمل‌های استاندارد باکتری‌شناسی در کشت شیر ورم پستانی (محمدصادق ۱۳۷۹) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در بررسی نرمال بودن یا نبودن داده‌های قابل اندازه‌گیری مانند قطر آلئول‌ها، مخزن پستان و کانال سرپستانک از آزمون کولموگرو-اسمیرنوف و شاپرو-ویل استفاده شد. در مقایسه شاخص‌های غیرنرمال قابل اندازه‌گیری در بین گروه‌های سالم و ورم پستانی مانند قطر مخزن و آلئول‌های پستانی از آزمون‌های Wilcoxon و Mann-Whitney Tes و Signed Ranks Tes برای مقایسه شاخص‌های نرمال قابل اندازه‌گیری در بین گروه‌های سالم و ورم پستانی مانند قطر سرپستانک از آزمون Studenty T tset استفاده شد. در بررسی تأثیر نوع باکتری‌های جدا شده از ورم پستان بر شاخص‌های اولتراسونوگرافی از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در بررسی قطر سرپستانک تا (توزیع نرمال) و آزمون کروسکال - والیس در بررسی قطر مخزن شیر سرپستانک و آلئول‌ها (توزیع غیر نرمال) استفاده شد. در پردازش داده‌ها از نرم افزار IBM SPSS -22 (2015) (Rayan Hesab Co. Tehran. IRAN) استفاده شد. در این مطالعه سطح معنی‌داری ۰/۰۵ و خطای نوع اول $\alpha = 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

آزمون کولموگرو-اسمیرنوف و شاپرو-ویل نشان داد قطر سرپستانک از توزیع نرمال برخوردار بود ولی قطر مخزن پستان و آلئول از توزیع نرمال برخوردار نبود. قطر سرپستانک در سالم‌ها (۰/۸ cm) = میانه و ۰/۱۵ ± (۰/۸۲)، قطر سرپستانک در ورم پستان‌ها (۰/۸۲

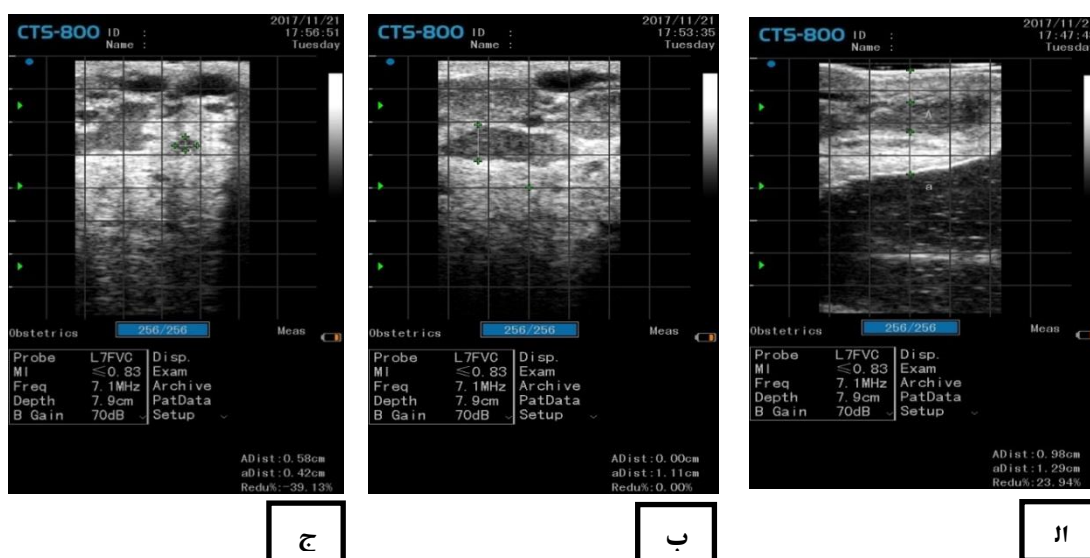
تماس پراب با آن از پلاستیک شفاف ساخته شده بود آماده و سرپستانک درون آب قرار داده شد به گونه‌ای که کل سرپستانک داخل آب قرار گیرد؛ سپس پراب رکال ۷ مگاهرتزی دستگاه اولتراسونوگرافی که به‌طور کامل به ژل اولتراسونوگرافی آغشته شده بود روی پلاستیک شفاف قرار گرفت و تصاویر بعد از ثبت اندازه‌گیری‌های موردنظر ذخیره شد. برای ثبت تصاویر مربوط به مخزن شیر و آلئول‌ها، پراب آغشته به ژل به‌صورت مستقیم روی محل موردنظر قرار داده شد و پس از ثبت اندازه‌گیری‌ها تصویر ذخیره شد. در مورد گاوهایی که پستان پوشیده از مو داشتند برای تهیه تصاویر از تیغ تراش برای موزدایی استفاده شد.

برای نمونه‌گیری کشت میکروبی شیر بعد از شستن پستان و سرپستانک، مطابق روش ذکر شده در منبع شماره ۲، پستان توسط دستمال کاغذی یک‌بار مصرف کاملاً خشک شد. انتهای سرپستانک و منفذ آن توسط پارچه جاذب یا گاز آغشته به الکل ۷۰٪ (اتیل یا ایزوپروپیل) تمیز شد و اگر بعد از تمیز شدن هنوز آثار کثیفی بر روی پارچه مشاهده شد، این عمل دوباره تکرار شد. با چسباندن برچسب روی لوله به نحوی که مشخصات گاو، پستان، زمان و اسم مزرعه روی آن نوشته شده باشد، شماره لوله به ثبت رسید. انتقال نمونه به آزمایشگاه در کنار یخ انجام شد.

برای انجام کشت باکتری در آزمایشگاه پس از انتقال نمونه‌ها از محیط‌های کشت از قبل آماده شده بلافاصله و مک‌کانکی برای کشت خطی شیر استفاده شد و محیط‌های کشت در انکوباتور قرار داده شدند. پس از تشکیل پرگنه، دوباره باکتری‌ها در محیط کشت خالص‌سازی شدند و در داخل انکوباتور قرار گرفتند و پس از رشد باکتری‌های خالص‌سازی، گسترش تهیه و رنگ‌آمیزی انجام شد. این بار برای تشخیص نهایی نوع

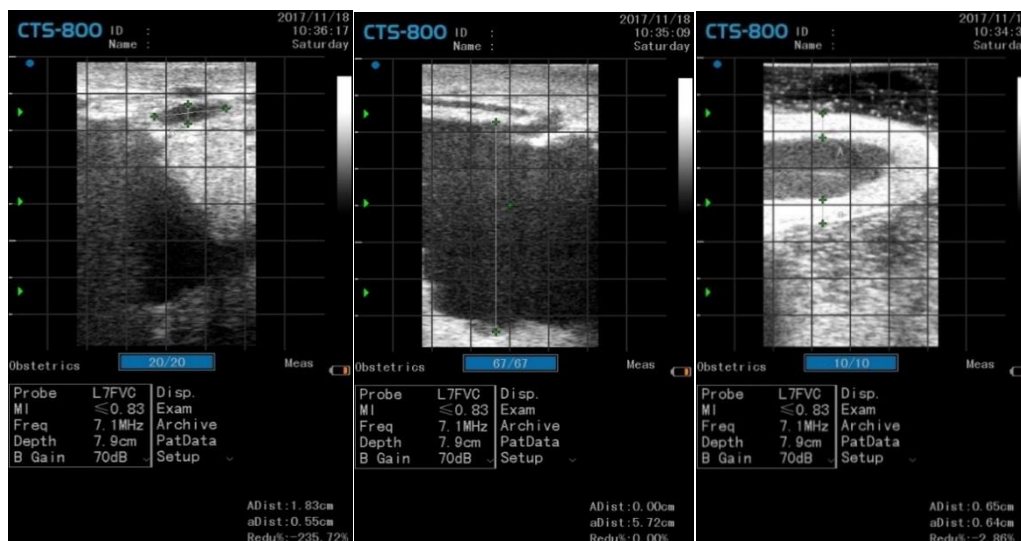
(۰/۹۶=میانۀ و ۰/۱۵±۰/۹۷)، استتاف اورئوس (۰/۹۸=میانۀ و ۰/۱۶±۰/۹۷) استرپ یوبریس (۱=میانۀ و ۰/۰۶±۱/۰۳) کورینه بویس (۰/۹۷=میانۀ و ۰/۰۷±۰/۹۷) و تروپیرلا پیوژنز (۰/۹=میانۀ و ۰/۰۳±۰/۹۷) بود. قطر مخزن شیر در موارد جدا نشدن باکتری از کشت (۰/۶۷=میانۀ و ۰/۱۶±۰/۷۴)، استتاف اورئوس (۰/۵۵=میانۀ و ۰/۲±۰/۶۲) استرپ یوبریس (۰/۷=میانۀ و ۰/۲۲±۰/۶۷) کورینه بویس (۰/۷۵=میانۀ و ۰/۰۷±۰/۷۵) و تروپیرلا پیوژنز (۰/۶۵=میانۀ و ۰/۲۱±۰/۶۵) بود. قطر آئول شیر در موارد جدا نشدن باکتری از کشت (۰/۷۴=میانۀ و ۰/۳۹±۰/۹۲)، استتاف اورئوس (۰/۹=میانۀ و ۰/۲۶±۰/۹۳) استرپ یوبریس (۰/۸۸=میانۀ و ۰/۱۲±۰/۸۸) کورینه بویس (۰/۶۸=میانۀ و ۰/۰۶±۰/۶۸) و تروپیرلا پیوژنز (۰/۷۷=میانۀ و ۰/۱۹±۰/۷۷) بود (تصویر ۱ و ۲). در بررسی تأثیر نوع باکتری بر شاخص های اولتراسونوگرافی، آزمون آنالیز واریانس یک طرفه در بررسی قطر سرپستانک و آزمون کروسکال-والیس در بررسی قطر مخزن شیر سرپستانک و آئول ها اختلافی نیافت (P>0.05) (جدول ۱ و ۲) (نمودار ۱).

(۰/۹۷=میانۀ و ۰/۱۳±۰/۹۸)، قطر مخزن شیر پستان در سالم ها (۰/۶۵ cm=میانۀ و ۰/۱۷±۰/۶۸)، قطر مخزن در ورم پستان ها (۰/۶۵ cm=میانۀ و ۰/۱۸±۰/۶۸)، قطر آئول ها در سالم ها (۰/۹ cm=میانۀ و ۰/۳۱±۰/۹۸) و قطر آئول ها در ورم پستان ها (۰/۸ cm=میانۀ و ۰/۳±۰/۸۸) بود. آزمون Student T اختلاف قطر کانال سرپستانک در موارد سالم و ورم پستانی را معنی دار دانست (P=0.00). آزمون Wilcoxon Signed و Mann-Whitney Test (از گروه غیر پارامتریک ها) اختلاف قطر مخزن شیر پستان و آئول ها را معنی دار ندانست (P>0.05). در بررسی نتیجه کشت از ۳۰ عدد نمونه اخذ شده مبتلا به ورم پستان کلینیکی در ۱۰ مورد از کشت های انجام شده هیچ باکتری استخراج نشد. در ۱۲ مورد باکتری رشد کرده استافیلوکوکوس اورئوس در ۴ مورد استرپتوکوکوس یوبریس، ۲ مورد کورینه باکتریوم بویس و ۲ مورد هم تروپیرلا پیوژنز بود. قطر سرپستانک در موارد جدا نشدن باکتری از کشت



تصویر ۱. تصاویر اولترا سونوگرافی بافت پستان در گاو مبتلا به ورم پستان: الف-سر پستانک، ب-مخزن شیر، ج- آئول

تعیین ارتباط میان باکتری‌های جداشده با یافته های اولتراسونوگرافی و... ۱۱۷

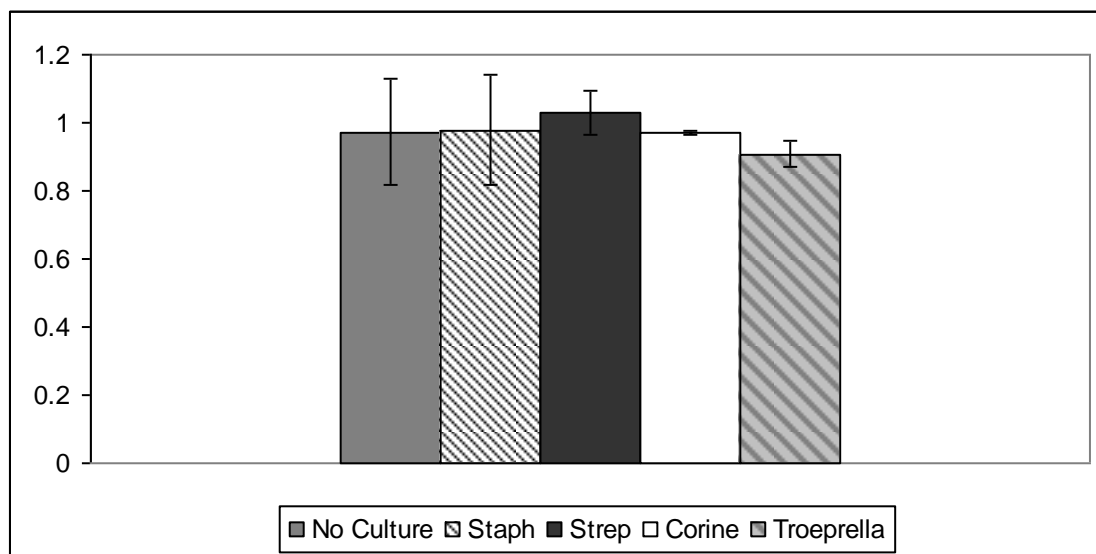


ج

ب

الف

تصویر ۲. تصاویر اولتراسونوگرافی بافت پستان در گاو سالم، الف-ر سر پستانک، ب- مخزن شیر، ج- آلوئول



نمودار ۱. مقایسه قطر سر پستانک در نتایج مختلف کشت ($p > 0.05$)

جدول ۱. مقایسه شاخص‌های اولتراسونوگرافی در موارد سالم و ورم پستانی

گروه	شاخص آماری	سرپستانک (p=0.00)	مخزن (p>0.05)	آلونول (p>0.05)
طبیعی	تعداد	۳۰	۳۰	۳۰
	میانگین	۸۱۷۲	۶۷۷۰	۹۸۴۷
	انحراف معیار	۱۴۹۵۹	۱۶۷۱۵	۳۱۴۳۹
	میانه	۸۰۰۰	۶۵۰۰	۹۱۰۰
ورم پستان	تعداد	۳۰	۳۰	۳۰
	میانگین	۹۷۸۳	۶۸۱۷	۸۸۴۷
	انحراف معیار	۱۳۷۴۸	۱۸۲۶۴	۲۸۴۱۷
	میانه	۹۷۲۵	۶۵۰۰	۸۳۰۰
کل	تعداد	۶۰	۶۰	۶۰
	میانگین	۸۹۷۸	۶۷۹۳	۹۳۴۷
	انحراف معیار	۱۶۳۹۹	۱۷۳۵۹	۳۰۱۳۶
	میانه	۹۱۰۰	۶۵۰۰	۹۰۰۰

جدول ۲. مقایسه شاخص‌های اولتراسونوگرافی در ابتلا به باکتری‌های مختلف

کشت شده	التهاب سرپستانک (p>0.05)	التهاب مخزن (p>0.05)	التهاب آلونول (p>0.05)
کشت منفی	تعداد	۱۰	۱۰
	میانگین	۹۷۳۵	۷۴۰۰
	انحراف معیار	۱۵۶۸۸	۱۶۶۳۳
	میانه	۹۶۲۵	۶۷۵۰
استافیلوکوکوس اورئوس	تعداد	۱۲	۱۲
	میانگین	۹۷۷۹	۶۲۹۲
	انحراف معیار	۱۶۲۵۹	۲۰۰۵۲
	میانه	۹۸۵۰	۵۵۰۰
استرپتوکوکوس پروویس	تعداد	۴	۴
	میانگین	۱۰۳۱۳	۶۷۵۰
	انحراف معیار	۰۶۴۹۸	۲۲۱۷۴
	میانه	۱۰۰۷۵	۷۰۰۰
کورینه باکتریوم بویس	تعداد	۲	۲
	میانگین	۹۷۰۰	۷۵۰۰
	انحراف معیار	۰۰۷۰۷	۰۷۰۷۱
	میانه	۹۷۰۰	۷۵۰۰
تروپولا بیوژنز	تعداد	۲	۲

۰.۷۷۵۰	۰.۶۵۰۰	۰.۹۰۷۵	میانگین	
۰.۱۹۰۹۲	۰.۲۱۲۱۳	۰.۰۳۸۸۹	انحراف معیار	
۰.۷۷۵۰	۰.۶۵۰۰	۰.۹۰۷۵	میانه	
۳۰	۳۰	۳۰	تعداد	کل
۰.۸۸۴۷	۰.۶۸۱۷	۰.۹۷۸۳	میانگین	
۰.۲۸۴۱۷	۰.۱۸۲۶۴	۰.۱۳۷۴۸	انحراف معیار	
۰.۸۳۰۰	۰.۶۵۰۰	۰.۹۷۲۵	میانه	

بحث و نتیجه گیری

مهم ترین فرضیه این تحقیق آن بود که بروز التهاب پستان باید سبب افزایش قطر در اپتلیوم مخزن سرپستانک، مخزن پستان و آلوئول‌های شیرساز شود. به گونه‌ای که بتوان این افزایش را در بررسی اولتراسونوگرافی مشاهده نمود. این فرضیه تنها در مورد مخزن سرپستانک تأیید شد. علت عدم تأیید در مخزن پستان و آلوئول‌های شیرساز وجود ایراد در تکنیک اولتراسونوگرافی می‌تواند باشد. در انجام سونوگرافی از سرپستانک با غوطه‌ور کردن سرپستانک امکان اندازه گیری مناسبی ایجاد شد ولی چنین توفیقی در اندازه گیری مخزن سرپستانک و آلوئول‌ها وجود نداشت.

Farnaz و دیگران (۲۰۰۹) سه روش مختلف در بررسی سرپستانک با تکنیک اولتراسونوگرافی را تشریح کرده‌اند. در یکی سرپستانک را در یک لیوان پلاستیکی پر از آب غوطه‌ور می‌کنند. در روش ساده‌تر پراب را به پوست سرپستانک می‌چسبانند و در روشی پیچیده‌تر پس از تزریق اکسی‌توسین به دام سالی‌نرمال یا شیر در داخل سرپستانک انفوزیون شد. در این روش‌ها طول کانال سرپستانک ۸ تا ۱۲ میلی‌متر بود (۱۰). به همین دلیل در تحقیق حاضر از غوطه‌ور کردن سرپستانک در لیوان پر از آب و قبل از تخلیه پستان استفاده شد.

Condino و دیگران در سال ۲۰۱۲ از مقایسه اولتراسونوگرافی در موارد ورم پستان گاو تغییر قابل مقایسه‌ای نیافت ولی thelosopic و تغییرات هیستوپاتولوژیک در تفکیک موارد ورم پستان از پستان و شیر سالم مفید بود (V). Seker و دیگران (۲۰۰۹) نشان داد که قطر مخزن سرپستانک در موارد مثبت بودن نتایج CMT حدود 1.44 ± 0.04 cm بود که کمتر از موارد منفی بودن CMT بود (۱۶). Hallowell در سال ۲۰۱۲ تکنیک اولتراسونوگرافی را در بررسی سلامت مخزن و کانال سرپستانک و مخزن پستان و همچنین در تعیین پاسخ به درمان مفید دانست (۱۲). Fasulkov (۲۰۱۲) با قرار دادن سرپستانک گاو در یک لیوان پلاستیکی پر از آب و قرار دادن پراب ۵ مگاهرتز در بیرون لیوان توانست بررسی دقیقی از سرپستانک انجام دهد (۱۱). Santos و دیگران (۲۰۱۶) استفاده از اولتراسونوگرافی با پراب ۶ مگاهرتز از نوع کانوکس سکتر 6 MHz convex sector transducer در بررسی پستان و سرپستانک را تنها یک روش تکمیلی در کنار دیگر روش‌ها قلمداد کردند؛ زیرا بسیاری از جزئیات را پیدا نمی‌کرد (۱۴). نتایج پژوهش با این تحقیق همسویی دارد. Wieland و دیگران در سال ۲۰۱۸ با مقایسه نقاط مختلف سرپستانک دریافتند که طول کانال سرپستانک و قطر منفذ کانال در مابین آنها و ابتدای کانال بهترین نقاط برای اندازه گیری با تکنیک

اولتراسونوگرافی در بررسی ورم پستان می‌باشند. در پژوهش ارائه شده میانگین قطر کانال مورد ارزیابی قرار گرفت در صورتی که مطابق تحقیقات دیگران بهتر است نقاط خاصی در سرپستانک مورد ارزیابی قرار گیرد (۱۹). Albino و دیگران در سال ۲۰۱۶ تعداد ۱۸ رأس تلیسه در حدود ۱۱۶ روزگی را انتخاب و با سه نوع رژیم غذایی مختلف تغذیه کردند تا افزایش وزن‌های زیاد (روزی ۱ کیلوگرم)، کم (روزی ۰/۵ کیلوگرم) و بین این دو را در آن‌ها ایجاد کردند. در حدود ۲۰۰ روزگی وزن 142 ± 8 کیلوگرم و مشخصه pixel values per unit بافت پارانیشیم غدد پستانی در بالای پستان را با اولتراسونوگرافی real-time B-mode microconvex نوع ۶/۵ مگاهرتز اندازه‌گیری کردند سپس تلیسه‌ها را کشتار و وزن پارانیشیم، چربی، پروتئین و دیگر مشخصات آنرا اندازه‌گیری کردند و در پایان دریافتند تکنیک اولتراسونوگرافی با دقت قابل قبول ۰/۷۷ تا ۰/۹۳ و ضریب همبستگی ۰/۴۱ تا ۰/۷۶ قادر به تشخیص موارد بررسی شده بود. ایشان نتیجه‌گیری - کردند از اولتراسونوگرافی پارانیشیم تلیسه‌ها می‌توان ساختار پارانیشیم غده پستانی را ارزیابی کرد. ۴) با این حال یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد میانه قطر سرپستانک‌ها در پستان سالم ۰/۹ سانتی‌متر و در موارد ورم پستان ۰/۸ سانتی‌متر بود. هرچند اختلاف معنی‌داری یافت نشد ولی تمایل به کاهش در ابتلا به ورم پستان می‌تواند ناشی از کاهش تولید شیر در ورم پستان باشد. البته در این پژوهش pixel values per unit مورد ارزیابی قرار نگرفت.

محل تهاجم باکتری‌های مختلف در بافت‌های پستان متفاوت است. برخی باکتری‌ها مانند کورینه باکتریوم بویس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه، استرپتوکوکوس یووریس و

استافیلوکوکوسی‌های کوآگولاز منفی بیشتر در شیر داخل پستان و اپیتلیوم مجاری پستانی عفونت ایجاد می‌کنند بنابراین در عفونت‌های ناشی از آن‌ها سرپستانک و مخزن سرپستانک و مخزن پستان در گیر می‌شوند. برعکس باکتری‌هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس و تروپرلا پیوژنز توان ایجاد عفونت در پارانیشیم غدد و آلوئول‌های شیرساز را دارند. باکتری‌هایی مانند کورینه باکتریوم بویس، کلبسیلا نومونیه و استرپتوکوکوسی‌های محیطی در اصل توان ایجاد کانون عفونت در آلوئول‌های شیرساز غدد پستانی را ندارند (۹) از این روی یکی از فرضیات این تحقیق آن بود که میان نوع باکتری جدا شده از موارد ورم پستان و افزایش قطر در یافته‌های اولتراسونوگرافی ارتباط وجود دارد. در تحقیق حاضر افزایش قطر فقط در مخزن سرپستانک معنی‌دار بود ولی بین این افزایش با نوع باکتری ارتباطی یافت نشد. علت تائید نشدن این فرضیه به احتمال زیاد کم بودن تعداد نمونه‌هاست.

نتیجه‌گیری

از شاخص‌های قطر سرپستانک، مخزن شیر پستان و آلوئول‌های پستانی تنها قطر سرپستانک در موارد ورم پستانی افزایش نشان داد. قطر سرپستانک در سالم‌ها (۰/۸ cm = میانه و $0/67 \pm 0/82$)، قطر سرپستانک در ورم پستان‌ها (۰/۹۷ cm = میانه و $0/13 \pm 0/99$) بود. باکتری‌های استاف اورئوس (۱۲ مورد)، استرپ بوبریس (۴ مورد) تروپرلا پیوژنز (۲ مورد) و کورینه باکتریوم بویس (۲ مورد) از موارد ورم پستانی جدا شد ولی توزیع آن‌ها در بین درجات مختلف ورم پستان اختلاف معنی‌داری نداشت.

تقدیر و تشکر

نویسندگان این مقاله بر خود واجب می‌دانند از جناب آقای دکتر مهدی عسکری استادیار دانشکده دامپزشکی

- Pigs, and Goats*. 11^{Ed} Edition, Elsevier, Missury: 1905-1991.
- Erskine, R.J., Wagner, S.A., Degraives, F.J. (2003). Mastitis therapy and pharmacology. *Veterinary Clinic of North America, Food Animal Practice* **19**:109-38.
 - Franz, S., Floek, M., Hofmann-Parisot, M. (2009). Ultrasonography of the Bovine Udder and Teat. *Veterinary Clinics North America, Food Animal* **25**: 669-85.
 - Fasulkov, I.R. (2012). Ultrasonography of the mammary gland in ruminants: a review. *Bulgarian journal of veterinary medicine* **15**: 1-12.
 - Hallowell, G.D. (2010). Ultrasound of the bovine mammary gland and its role in mastitis control. *International Dairy Topics* (11) **5**: 41-3.
 - Radostitis, O.M., Gay, C.C., Hinchiff, K.W., and Constable, P.D. (2007). *Veterinary Medicine*. 10th Edition. WB Saunders-Elsevier, Edinburg: 673-762.
 - Santos, K.D., Oliveira, M.G., Noriler, E.P., Vrisman, D.P., Borges, L.P.B., Santos, V.J.C., Coutinho, L.N., Teixeira, P.P.M. (2016). Mammary gland ultrasound evaluation of jersey cattle breeds. *Acta Scientiae Veterinariae*, **44**: 1410.
 - Saratis, P., Grunert, E. (1993). Ultrasonography in the cow for determination of dimension and localization of pathological teat changes. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* **100**: 159-63.
 - Seker, I., Risvanli, A., Yuksel, M., Saatb, N., and Ozm, O. (2009). Relationship between California Mastitis Test score and ultrasonographic teat measurements in dairy cows. *Australian Veterinary Journal* **87**:480-3.
 - Smith B.P. (2015) *Large Animal Internal Medicine*, 5th Edition. Elsevier-Mosby Pub, Missouri: 1019 - 1037.
 - گرمسار در بخش میکروبیولوژی و جناب آقای مهندس مجید یزدانی کارشناس مسئول آن بخش تقدیر نمایند.
- ### منابع
- محمدصادق، م. آینه چیان، م. بکایی، س. (۱۳۸۵). بررسی کارایی محلول شیرآزما در شناسایی ورم پستان تحت درمانگاهی. *مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد گرمسار* **۳**(۱) ۱۲۰-۹۶.
 - محمد صادق، م. (۱۳۷۹). *دانشتهای روز در ورم پستان گاو*. ناشر دانشگاه آزاد اسلامی گرمسار-آیپژ، صفحه ۳۸-۱۹.
 - محمدصادق، م. (۱۳۸۸). *ورم پستان در دامهای شیری*. ناشر دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ۳۳۵-۱.
 - Albino., R.L., Guimarães, S.E.F., Daniels, K.M., Fontes, M.M.S., Machado, A.F., Dos Santos G.B., Marcondes, M.I. (2016). Technical note: Mammary gland ultrasonography to evaluate mammary parenchymal composition in prepubertal heifers. *Journal of Dairy Sciences* **100**:1-4, <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11668>.
 - Cartee, R.E., Ibrahim, A.K., Leary, Mc. (1986). B-mode ultrasonography of the bovine udder and teat. *Journal American Veterinary Medicine Association* **188**:1284-87.
 - Caruolo, EV., Mochrie, RD. (1967). Ultrasonograms of lactating mammary glands. *Journal of Dairy Sciences* **50**:225-30.
 - Condino, M.P., Ajito, T., Sato, K., Hyakutake, K., Suzuki, K., Taguchi, K. (2012). Milk-flow, ultrasonographic, theoscopic, and histopathological characteristics of the teat in cows with toxic mastitis. *Research in Veterinary Science* **93**: 865-71.
 - Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S., Gruenberg, W. (2017). *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep*

18. Stocker, H., Bättig, U., Duss, M., Zähler, M., Flückiger, M., Eicher, R., Rüschi, P. (1989) Clarification of teat stenosis in cattle by ultrasound. *Tierarztl Prax* **17**:251–6.
19. Wieland, M., Melvin, J.M., Virkler, P.D., Nydam, D.V., Heuwieser, W. (2018). Technical note: Development and evaluation of a standard operating procedure for ultrasound-based measurements of teat canal dimensions in dairy cows. *Journal of Dairy Sciences* **101**:1–6.

Determining the correlation of the isolated bacteria with the ultrasonographic and echomorphometric findings of the udder, teat and the cistern of dairy cows involved to mastitis

Amir FarjamiMoghadam¹, Majid MohammadSadegh^{*2}

1-DVM, Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Garmsar, Iran.

2-Associated Professor of Theriogenology; Department of Clinical Sciences; Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Garmsar, Iran.

Received: 10 May 2018

Accepted: 10 July 2018

Abstract

*In this article in order to determine the sonographic indexes in bovine clinical mastitis, 30 involved cows with a watery discharge or some flocks in milk, pain, swelling and redness in the udder, and high temperature were selected. Streak canal diameter of the teats, udder cistern epithelium and alveolar parenshyma of milk glands on top of the udder were examined with a 7 MHZ SONO probe in involved quarter as a test, and in the contralateral and normal quarter as a control case. Milk samples obtained from involved quarters for following microbiological evaluations. Finally, the findings with non-normal distributions were compared between control and test groups with the Mann-Withny and Wilcocson-Rank, and data with normal distribution were compared with the Student T test. The diameter of streak canal was (0.82 ± 0.67 , (MED=0.8); (0.99 ± 0.13 , (MED=. 97) cm, $P<0.05$), the diameter of udder cistern epithelium was (0.68 ± 0.17 , (MED=0.65); (0.68 ± 0.18 , (MED=. 65) cm, $P>0.05$), the diameter of milk gland alveolar parenchyma on top of the udder was (0.98 ± 0.31 , (MED=0.9); (0.88 ± 0.3 , (MED=. 8) cm, $P>0.05$) in normal and involved quarters, respectively. *Staphylococcus aureus* (n= 12), *Streptococcus uberis* (n=2) and *Corinebacterium bovis* (n=2) were isolated from the mastitis involved quarters, but their distributions were not statistically different among the various degrees of mastitis. It was concluded that only the diameter of the streak canal increased in mastitis cases. There was no correlation between the kind of isolated bacteria and the site of inflammation in the mastitis cases.*

Keywords: Mastitis, udder ultrasound indexes, epithelial diameter, udder milk reservoir, glandular alveoli

**Corresponding author: MOHAMMADSADegH Majid*

Address: Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran.

Email: Dr.msadeg@gmail.com